

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

E.A.P. DE ODONTOLOGÍA



**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE LA
COMBINACIÓN DE DROGAS 3 MIX EN BACTERIAS
ANAEROBIAS PREVALENTES EN NECROSIS PULPAR**

TESIS

**para obtener el Título de
Cirujano Dentista**

AUTORA

Angela Quispe Salcedo

Lima – Perú

2007

A Mama Eva y Mirian, por haber estado siempre conmigo, por su alegría, bondad y profundo amor.

A mi querida familia: Beto, Donald, Carlos, José, Doris, Betty y Princesa, por apoyarme en cada momento de mi vida.

A Chofi

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer de manera muy personal a todas las personas que con su colaboración hicieron posible el desarrollo del presente trabajo de investigación; a todos aquellos que participaron directa o indirectamente con su apoyo, sugerencias y confianza en su realización desde que solo era un proyecto.

- Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- A mi asesora, Dra. Maria Castañeda Mosto, docente de la Facultad de Odontología de la UNMSM por su apoyo constante y la confianza depositada en mí desde un inicio.
- Mg. Doris E. Salcedo Moncada, docente de la Facultad de Odontología de la UNMSM por su continua orientación y por incentivarme a seguir el camino de la investigación.
- CD. E. Juan Aguado Donayre, por sus valiosas sugerencias desde el inicio de la investigación, por su motivación y amistad.
- Dra. Hilda Moromi Nakata, docente de la Facultad de Odontología de la UNMSM por su apoyo constante durante la ejecución del proyecto.
- Biol. Elba Martínez Cadillo, docente de la Facultad de Odontología de la UNMSM por su apoyo y orientación durante la ejecución del proyecto.
- CD. Jhonny Burga Sánchez, docente de la Facultad de Odontología de la UNMSM por su desinteresada y valiosa colaboración en el área farmacológica.
- CD. Victor Chumpitaz Cerrate, docente de la Facultad de Odontología de la UNMSM por su desinteresada colaboración en el área farmacológica.
- CD. Teresa Evaristo Chyiong, docente de la Facultad de Odontología de la UNMSM por su desinteresada colaboración en la parte metodológica y estadística.
- Ph.D. Luciana Kohatsu. Postdoctoral Fellow del Departamento de Patología y laboratorio medico de la escuela de medicina David Geffen de la Universidad de UCLA, Estados Unidos, por su valiosa colaboración con el presente trabajo de investigación.
- Al personal del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la UNMSM, por su colaboración durante la ejecución del proyecto.
- A cada uno de mis queridos amigos, por estar siempre a mi lado, por tantos buenos momentos.

INDICE

	Pagina
I. INTRODUCCION	8
II. MARCO TEORICO	
2.1. Antecedentes	9
2.2. Bases Teóricas	
2.2.1. La pulpa dental	16
2.2.2. Microbiología de las infecciones pulpares y periapicales	28
2.2.3. Materiales de obturación de uso común en tratamientos pulpares de piezas temporales	34
2.2.4. La Pasta 3 Mix – MP	38
2.3. Planteamiento del Problema	47
2.4. Justificación	49
2.5. Objetivos de la Investigación	
2.5.1. Objetivo General	50
2.5.2. Objetivo Especifico	51
2.6. Hipótesis	51
III. MATERIALES Y METODOS	
3.1. Tipo de Investigación	52
3.2. Población y Muestra	53
3.3. Operacionalización de Variables	54
3.4. Materiales y Método	
3.4.1. Procedimientos y Técnicas	56
3.4.2. Recolección de Datos	63
IV. RESULTADOS	64
V. DISCUSION	88

VI. CONCLUSIONES	95
VII. RECOMENDACIONES	97
RESUMEN	99
REFERENCIA BIBLIOGRAFICA	102
ANEXOS	
Anexo 1. Cartilla de instrucción para reactivación de las cepas	115
Anexo 2. Instrumento de recolección de datos	116
Anexo 3. Fotografías	117

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad antibacteriana de la Combinación de Drogas 3Mix, formada por Metronidazol, Ciprofloxacina y Minociclina, contra microorganismos anaerobios estrictos y facultativos prevalentes en conductos radiculares de piezas deciduas con necrosis pulpar. Se utilizaron seis cepas ATCC® de bacterias anaerobias estrictas y facultativas para probar la susceptibilidad a la combinación de Drogas 3Mix y sus componentes mediante el Método de Disco Difusión Kirby – Bauer en medio anaerobio. Se realizó la lectura de los resultados a las 24 y 48 horas observándose amplios halos de inhibición en todas las bacterias. La mayor actividad antibacteriana fue producida por la solución de Metronidazol seguida por la combinación de Drogas 3Mix, Minociclina y Ciprofloxacina el cual mostró el menor efecto antibacteriano. La bacteria *Prevotella melaninogénica* fue la mas susceptible a la combinación de Drogas 3Mix demostrando mayor efectividad sobre microorganismos anaerobios estrictos y la ausencia de antagonismo farmacológico entre sus componentes.

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the antibacterial activity of the Mixture of Drugs 3Mix, formed by Metronidazole, Ciprofloxacin and Minocycline against the main strict and facultative anaerobic microorganisms in deciduous teeth with necrotic pulps. Six ATCC® stocks of facultative and strict anaerobic bacterias (Porphyromona, Prevotellas, Peptostreptococcus, Lactobacillus, Actinomyces, and Streptococcus) were used to prove the susceptibility to the Mixture of Drugs 3Mix and its components by means Disk Difussion Kirby – Bauer’s method in anaerobic conditions. The reading of results was made at 24 and 48 hours respectively, being observated wide inhibition halos in all the bacteria tested. The biggest antibacterial activity was produced by the Metronidazol solution followed by the mixture of Drugs 3Mix, Minocycline and Ciprofloxacin which showed the lowest antibacterial effect. Prevotella melaninogénica was the most susceptible to the Mixture of Drugs 3Mix demonstrating high effectiveness on strict anaerobic microorganisms and the absence of pharmacologic antagonism between its components.

I. INTRODUCCION

Las piezas deciduas debido a sus características morfológicas son más susceptibles a caries dental. Cuando el agente agresor avanza, las lesiones van profundizándose y muchas veces pasan de un estado de Pulpitis a otro denominado clínicamente como Necrosis Pulpar. Cuando esto ocurre y si la pieza afectada aun esta lejos de su etapa de exfoliación, el tratamiento indicado es el de Pulpectomía. Muchas veces, debido al tiempo, cantidad de pasos operatorios, y el grado de colaboración del paciente este tratamiento termina en fracaso. En vista de este problema, se ha venido estudiando nuevas alternativas para el tratamiento de piezas deciduas indicadas para tratamientos de Pulpectomía mediante el empleo de pastas antibióticas sin necesidad de realizar instrumentación de los conductos radiculares.

La Pasta 3Mix – MP ha sido desarrollada como una alternativa en el tratamiento de piezas deciduas necróticas con y sin presencia de lesiones periapicales; ya que debido a sus componentes tiene la capacidad de erradicar la microbiota característica de estas patología y reparar las lesiones.

En la presente investigación se pretende evaluar In Vitro la efectividad de la combinación de drogas 3Mix y sus componentes: Metronidazol, Ciprofloxacina y Minociclina sobre las bacterias anaerobias estrictas y facultativas prevalentes en necrosis pulpar con la finalidad de valorar su posible utilización en la práctica clínica odontopediátrica y contribuir a las investigaciones realizadas sobre el tema hasta la actualidad.

II. MARCO TEORICO

2.1. Antecedentes

Sato T, Hoshino E., Uematsu H. et al (1993) ² Realizaron un estudio con el propósito de establecer y aclarar la eficacia de una mezcla de drogas compuesta por Ciprofloxacina, Metronidazol mas un tercer antibiótico: Amoxicilina, Cefaclor, Cefroxadine, Fosfomicin o Rokitamycin en bacterias de lesiones cariosas y endodónticas de dientes deciduos humanos extraídos, in vitro. Para evaluar la eficacia cultivaron muestras de dentina cariada (17 casos) y de tejidos pulpaes infectados (14 casos) en placas control y placas conteniendo la mezcla de drogas y observaron que ninguna bacteria fue recuperada en presencia de ésta. Asimismo, cubrieron las superficies de las lesiones de los dientes recién extraídos con cemento de fosfato alfatricálcico conteniendo una mezcla de Ciprofloxacina, Metronidazol y Cefaclor (1% cada uno, en 5 casos) y observaron que tampoco se recupero ninguna bacteria de las lesiones. Y por ultimo sumergieron las muestras en una solución de la mezcla (200ug cada una/ ml.) sin poder recuperar ninguna bacteria; concluyendo que las lesiones cariosas y endodónticas pueden ser esterilizadas por la mezcla de drogas in situ.

Wen – Shiun Tchaou, DDS (1995) ³ Comparó la efectividad antibacteriana de diez materiales de obturación usados en pulpectomías: Ca(OH)₂ + Paramono Clorofenol Alcanforado, Ca (OH)₂ + Agua destilada, Oxido de Zinc + Paramono Clorofenol Alcanforado, Oxido de Zinc + Eugenol, Oxido de Zinc – Eugenol + Formocresol, Oxido de Zinc – Eugenol + Agua Destilada, Oxido de Zinc – Eugenol

+ Dihicloridrato de Clorhexedrina, Pasta Kri, Vitapex y Vaselina (control). Éstos materiales fueron comparados contra las bacterias obtenidas de 13 dientes temporales a través de un ensayo de difusión en Agar. Los resultados sugirieron que los materiales podían ser divididos en tres categorías de las cuales la Categoría I fue la que demostró el efecto antibacteriano mas fuerte e incluyó al ZnO + CPC, Hidróxido de calcio + CPC y ZOE + Formocresol.

Sato J, Ando – Kurihara N, Kota K, Iwaku M, Hoshino E. (1996) ⁴ Observaron el potencial antibacteriano de una mezcla de Ciprofloxacina, Metronidazol y Minociclina en los túbulos dentinarios de la dentina radicular infectada in situ. Los conductos radiculares fueron irrigados previamente con 0.4M EDTA antes de la aplicación de la mezcla antibiótica. La penetración y la eficacia bactericida se calcularon a través de periodos de observación y mediante varios procedimientos (recuento de bacterias y medición de zonas de inhibición), de tal manera que al final no se recupero ninguna bacteria de la dentina radicular, excepto en un caso en el cual se recuperaron unas pocas bacterias demostrando el efecto antibacteriano de la combinación de estas tres drogas en las paredes de conductos infectados.

Hoshino E., Kurihara Ando, Sato I, Uematsu H, Sato M, Kota K, Iwaku M (1996) ⁵ Realizaron este estudio con el objeto de establecer el efecto antibacteriano de una mezcla de Ciprofloxacina, Metronidazol y Minociclina, con y sin la adición de Rifampicina, en bacterias tomadas de dentina radicular infectada, así como de dentina cariada y tejido pulpar infectado. La eficacia se estimó in vitro mediante la recuperación de bacterias en placas agar (sangre BHI) en presencia

o ausencia de la combinación de drogas antibacterianas (10, 25, 50 y 75 ug/ml). No se recuperaron ninguna de las muestras en presencia de la combinación de drogas (25 ug. / ml.) lo que indica la potencia y eficacia bactericida de las drogas contra los microorganismos presentes en los conductos radiculares infectados o dentina cariada.

T. Takushige, E. Hoshino (2001)⁶ Evaluaron la efectividad de la terapia LSTR (Esterilización de Lesiones y Reparación Tisular) en base al uso de la pasta 3 Mix-MP en dientes con perforaciones radiculares crónicas y lesiones perirradiculares. Los orificios producto de las perforaciones fueron sellados (dentro de lo posible) con resina compuesta. La pasta 3 Mix-MP fue colocada en el fondo de las cavidades para esterilizar el diente y las lesiones adyacentes. Parte de la dentina infectada (blanda) fue dejada intencionalmente ya que esta puede ser re-calcificada luego de la esterilización. Se empleo un cemento a base de ionómero de vidrio para sellar las cavidades y posteriormente éstos fueron restaurados. De 57 casos, 45 (79%) fueron clasificados como clínicamente buenos luego de evaluaciones a corto y largo plazo (32 - 4123 días). Las lesiones perirradiculares se redujeron o desaparecieron conjuntamente con otros síntomas clínicos como dolor a la masticación o percusión. En 9 casos (16%) las lesiones perirradiculares no fueron evidentes radiográficamente en las evaluaciones a largo plazo al cabo de 133 a 3730 días. Tres casos (4%) fueron evaluados como exitosos luego de un re-tratamiento bajo los mismos procedimientos. En la mayor parte de los casos las lesiones perirradiculares causadas por perforaciones crónicas mejoraron o desaparecieron

radiográficamente por la terapia LSTR 3Mix-MP y todos los dientes pudieron ser conservados sin presentar síntomas clínicos.

Cruz EV, Kota K, Huque J, Iwaku M, Hoshino E (2002) ⁷ Evaluaron la penetración del Propylen Glicol dentro de los túbulos dentinarios; para esto se disolvió Safranina O en Propylen Glicol y en agua destilada, introduciéndolos en los conductos radiculares con y sin presencia de Smear layer (barro dentinario) artificial. Los resultados de este estudio demostraron que el Propylen Glicol llevo el tinte mediante del sistema de túbulos mas rápida y efectivamente y en ausencia de barro dentinario, indicando su uso potencial como vehiculo en medicamentos intraconducto.

Takushige T., Cruz EV, Asgor Moral A, Hoshino E. (2004) ⁸ Evaluaron el resultado clínico de la terapia LSTR (Esterilización de lesiones y reparación tisular) en tratamientos endodónticos de dientes temporales empleando una mezcla de Metronidazol, Minociclina y Ciprofloxacina en ungüento con Macrogol y Propylen Glicol para la desinfección de conductos radiculares en 56 pacientes. El ungüento se colocó en la entrada de los conductos radiculares y en la base de la cámara pulpar, sin realizar instrumentación previa. En todos los casos los síntomas y signos clínicos como abscesos gingivales, presencia de fístulas, dolor inducido, dolor espontáneo y dolor pulsante desaparecieron luego del tratamiento y todos los casos fueron evaluados como exitosos.

Windley W, Texeira Fabricio, Levin Lidia, Sigurdsson, Trope Martín (2005) ⁹ estudiaron la capacidad de una pasta antibiótica triple consistente de

Metronidazol, Ciprofloxacina y Minociclina para la desinfección de dientes inmaduros de perros con periodontitis apical. Se tomaron muestras de los conductos antes (S1) y después (S2) de la irrigación con NaOCl 1,25%, y después de ser revestidos con la pasta antibiótica triple (S3) consistente de Metronidazol, Ciprofloxacina y Minociclina. En S1 se obtuvo un 100% de cultivos bacterianos con un promedio de CFU de 1.7×10^8 . En S2 se observó un 10% de cultivos libres de bacterias con un promedio de CFU de 1.4×10^4 . En S3, se obtuvo un 70% de cultivos libres de bacterias con un promedio de CFU de solo 26. Las reducciones en el promedio de unidades formadoras de colonias contadas entre S1 y S2 ($p < 0,0001$) así como entre S2 y S3 ($p < 0.0001$) fueron estadísticamente significativas. Estos resultados indican la efectividad de la pasta antibiótica triple en la desinfección de dientes inmaduros con lesión periapical.

Hoshino E., Hiroyuki U., y col. (2005) ¹⁰ Evaluaron la susceptibilidad del *Enterococcus* a una combinación de drogas antibacterianas: Metronidazol, Ciprofloxacina, Minociclina (3Mix), la cual es usada para la terapia de Esterilización de Lesiones y Reparación Tisular (LSTR). El *Enterococcus faecalis* ha sido reportado como causante de infecciones persistentes en los conductos radiculares, especialmente después de usar Hidróxido de calcio como revestimiento, mostrando frecuentemente tolerancia a ciertas drogas antibacteriales. Las concentraciones inhibitorias mínimas de Ciprofloxacina y Minociclina en *Enterococcus faecalis* y *E. faecium* fueron 5 – 20 ug/ml respectivamente y no se observó efecto inhibitorio con el Metronidazol. 3Mix (100ug/ml.) como mezcla, inhibió completamente el crecimiento de cada cadena. Adicionalmente 3Mix también inhibió el crecimiento en *E. faecies* (116 muestras).

Los resultados obtenidos indicaron que 3 Mix es suficientemente capaz de inhibir el crecimiento del Enterococcus y puede ser útil para el tratamiento endodóntico en casos donde se sospeche de la presencia de esta bacteria.

Hoshino E., Asgor M.A. y col. (2005) ¹¹ Evaluaron el segundo año del tratamiento endodóntico de un solo paso 3Mix- Mp, usando una combinación de drogas antibacterianas. Metronidazol, Minociclina y Ciprofloxacina (3Mix) y Macrogol y Propylen Glicol (MP) bajo el concepto de “Terapia de esterilización de lesiones y reparación tisular (LSTR)”. Realizaron el tratamiento en las primeras molares de niños en edad escolar como parte de un programa de salud oral realizado en Shichbar, Bangladesh y Alfonso, Filipinas. A pesar de pérdida de las restauraciones presentadas en algunos pacientes, los resultados que obtuvieron fueron evaluados como exitosos demostrando las excelentes propiedades en programas de salud oral rural de la técnica LSTR 3Mix-MP NIET (Non Instrumentation Endodontic Treatment).

Ankara H., Takushige T., Hoshino E. (2005) ¹² Evaluaron clínicamente el tratamiento endodóntico 3Mix-MP usando una combinación de drogas antibacterianas en 991 piezas permanentes. Se agrandaron los orificios de las entradas de los conductos para crear una cavidad donde alojar la medicación (3Mix-MP) para luego sellar el conducto con cemento de ionómero de vidrio. En la siguiente cita realizaron la preparación del conducto y la obturación con gutapercha y cemento endodóntico. En algunos casos (19,2%) solo fue dada medicación sin ningún otro procedimiento endodóntico (NIET: Tratamiento endodóntico no instrumentado). Los resultados obtenidos fueron exitosos en la mayoría de los casos (97,8%) debido a la desaparición de los síntomas y signos

clínicos como fístulas, formación de abscesos, exudado purulento, inflamación o dolor a la masticación; así como la recuperación parcial o total de las lesiones periapicales. De 602 casos seguidos durante mas de 7 años, 595 (98.8%) fueron evaluados como exitosos. En las piezas tratadas bajo el concepto de NIET, 187 casos (98,4%) fueron considerados también como exitosas. Esto indica que el tratamiento endodóntico 3Mix-MP, incluyendo NIET determina excelentes resultados clínicos.

Takushige T., Hataoka, H y col (2006) ¹³ Evaluaron clínicamente la terapia LSTR 3Mix-MP para casos con lesiones periapicales generadas después de haberse realizado tratamientos endodónticos (re-tratamientos). Se colocó la pasta 3Mix-MP en los orificios de la entrada de los conductos radiculares de 101 dientes permanentes sin remover la obturación previa, luego se selló con cemento de ionómero de vidrio y posteriormente fueron reforzados con incrustaciones inlay de metal o resina. No realizaron preparación u obturación alguna en los conductos. Después de tres meses de realizado el tratamiento se evaluaron cambios en la radiolucidez de las lesiones. Todos los síntomas clínicos mejoraron después del tratamiento, no se observaron casos de fracturas radiculares o algún otro tipo de desorden posteriores al tratamiento. 97 de los casos (96%) fueron clínicamente favorables y en 4 de ellos no hubo cambio en el tamaño de las lesiones , permaneciendo bajo observación, dando como conclusión que el uso de la terapia LSTR 3Mix-MP NIET es eficiente y exitosa en el re-tratamiento de las lesiones radiolúcidas periapicales.

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. La Pulpa Dental

2.2.1.1. Conceptos básicos

Es un tejido conjuntivo laxo de origen mesenquimatoso¹⁹ que se encuentra encerrado en el interior de la cámara pulpar y de los conductos radiculares²⁰. Constituye junto a la dentina una unidad denominada complejo pulpo dentinario²¹. La pulpa dental contiene alto contenido de células (fibroblastos, macrófagos, linfocitos) fibras colágenas y reticulares, sustancia fundamental amorfa, líquido tisular, vasos sanguíneos, linfáticos y nervios²¹.

Posee una rica microvascularización, la cual es la base de la nutrición del complejo dentino pulpar²¹ y esta conformada por:

_Arteriolas, las cuales penetran en la pulpa por el foramen apical formando al centro un amplio plexo del cual salen vasos de menor calibre formando el plexo capilar sub-dentinoblastico

_Vénulas, acompañan a los capilares, existen anastomosis directas con las arteriolas.

_Vasos linfáticos, se inician en el centro de la pulpa y salen por el foramen apical²⁰.

La innervación del tejido pulpar se localiza especialmente en el plexo de Raschkow, ubicado en la zona sub-odontoblastica²¹ y el cual esta conformado por dos tipos de fibras:

_ Fibras mielínicas, encontramos aquí a las fibras A delta. Estas fibras tienen un umbral de estimulación bajo y se encargan de transmitir dolor de tipo agudo y punzante¹⁹.

_Fibras amielínicas, fibras tipo C, responsables del control del flujo vascular²⁰. Estas fibras se encuentran distribuidas por toda la pulpa. Su umbral de estimulación es alto. La característica del dolor que transmiten es un dolor intenso y quebrante.

El tejido pulpar cumple cuatro funciones básicas para el diente, la primera y la más importante es la de la formación de dentina, función sensitiva, a través de sus fibras nerviosas; de nutrición, a través de su rica microvasculatura y de protección, mediante la formación de dentina reparativa o terciaria.

2.2.1.2. Factores Etiológicos de la Enfermedad Pulpar y Periapical

Los estímulos capaces de producir inflamación y necrosis de la pulpa, así como sus complicaciones periapicales son múltiples²⁰. Pueden ser divididos en cuatro categorías:

Factores Bacterianos

Las bacterias y sus productos representan las causas mas frecuentes de enfermedad Endodóntica. La respuesta pulpar a la caries es inflamatoria debido a que los túbulos dentinarios son permeables¹⁹. Los géneros y especies bacterianas son diversos y pueden llegar a la pulpa a través de varias vías como Caries

dental, Periodonto, Traumatismos, Filtración marginal, Anomalías de desarrollo y Circulación sanguínea²⁰.

Factores Traumáticos

La respuesta a traumatismos tales como golpes o accidentes puede ser variable, algunas pulpas aparentemente curan sin efectos adversos; mientras otras experimentan una necrosis¹⁹. Los traumatismos que producen una exposición pulpar o dentinaria son causa de inflamación por posibilitar la llegada de bacterias a la pulpa; cuando el traumatismo no ocasiona una comunicación de la pulpa con la cavidad bucal, pero sí la necrosis pulpar, las bacterias pueden llegar por anacoresis²⁰.

Factores Iatrogénicos

Entran en esta categoría aquellos procedimientos restauradores que generen calor y desecación de túbulos dentinarios²⁰, productos y sustancias químicas que puedan provocar una irritación pulpar¹⁹, raspado periodontal que seccione una arteriola que transcurra por un conducto lateral y por movimientos ortodónticos demasiado bruscos²⁰.

Factores Idiopáticos

Podemos señalar aquí a la resorción interna o factores desconocidos que puedan causar enfermedad pulpar y/o periapical.

2.2.1.3. Fisiopatología Pulpar

Los procesos inflamatorios pulpares muestran básicamente las mismas características que los observados en otras partes del tejido conectivo corporal. Se combinan diversos factores para alterar de algún modo la respuesta:

1. La pulpa es un tejido conectivo cercado totalmente por tejidos duros, lo cual limita su capacidad de expansión, disminuyendo su tolerancia al edema.
2. Carencia casi completa de circulación colateral. Este factor junto al anterior limita drásticamente la capacidad de la pulpa para disponer del tejido necrótico y los restos tisulares.
3. La pulpa es el único órgano capaz de producir dentina reparadora para protegerse de las agresiones¹⁹.

Estos factores sumados a la virulencia de las bacterias presentes y de los microorganismos defensivos del huésped variara el grado de la lesión histica²⁰.

2.2.1.4. Inflamación Pulpar

La inflamación pulpar se da a través de varias etapas. Empieza con la formación de dentina reparadora por parte de los odontoblastos frente a los factores irritantes, sin embargo, estos pueden llegar a destruirse en caso persista o se intensifique la agresión. Al efectuar un tratamiento oportuno en esta etapa estaríamos controlando la inflamación pulpar y dándole la oportunidad a los odontoblastos de diferenciarse y producir dentina reparadora. De no realizar

ninguna intervención la inflamación continuara y se extenderá a través de todo el tejido.

La inflamación pulpar puede dividirse en aguda y crónica:

Inflamación Aguda

Se produce por la llegada de componentes bacterianos a través de los túbulos dentinarios. Los capilares aumentan su flujo sanguíneo y se tornan más permeables, lo que permite la salida de trasudado plasmático hacia el tejido intersticial²⁰.

La salida de proteínas aumenta la presión osmótica del tejido intersticial, incrementando la salida de plasma y su acumulación en el mismo, es decir, se forma edema²⁰.

A su vez, las células polimorfonucleares, mediante diapédesis, se van marginando hacia la periferia de los vasos atraídas por moléculas mediadoras de la inflamación. Los neutrófilos son células polimorfonucleares de vida media corta, incapaces de soportar los continuos cambios de Ph. Estas células cuando perecen liberan enzimas proteolíticas contenidas en sus lisosomas, los cuales destruyen el tejido. Como resultado se forma pus, iniciándose la inflamación purulenta²⁰.

Inflamación Crónica

En esta etapa se liberan dos tipos de mediadores de la inflamación: los que destruyen los tejidos y aquellos que estimulan la reparación. Con ellos se establece la inflamación crónica coexistiendo con zonas de inflamación aguda²⁰.

En la zona de la pulpa donde llegan los componentes bacterianos se forma un microabceso mientras que, en su alrededor, se va instaurando la inflamación crónica. El tejido pulpar se va destruyendo a mayor o menor velocidad mediante fenómenos de necrosis por coagulación y por licuefacción²⁰, ya sea en sentido centrípeto o centrifugo, hasta ser total.

2.2.1.5. Inflamación Periapical

Comienza antes que la pulpa sufra una necrosis total¹⁹. Constituye la segunda barrera defensiva por intentar confinar las bacterias al interior del conducto²⁰.

Se produce una reacción inflamatoria crónica desde los vasos sanguíneos del ligamento periodontal originado por la diseminación de productos bacterianos, mediadores de la inflamación y tejido pulpar en vías de degeneración, los cuales atraviesan el foramen apical¹⁹.

Alrededor del foramen apical aparece un infiltrado inflamatorio crónico. El tejido óseo empieza a reabsorberse por acción de los osteoclastos, como mecanismo defensivo; aparece tejido de granulación a base del colágeno segregado por los fibroblastos y se produce la formación de una neovascularización, regulada por distintos mediadores.

2.2.1.6. Clasificación de las Enfermedades Pulpares

Las enfermedades pulpares se clasifican en: Pulpitis Reversible, Pulpitis Irreversible y Necrosis Pulpar²⁶. A continuación se describirán cada una de ellas

poniendo énfasis en la definición de Necrosis Pulpar por ser ésta base del presente trabajo de investigación.

2.2.1.7. Pulpitis Reversible

Es un estado de inflamación transitoria. Se produce un dolor agudo pero temporal debido a la acción de diversos irritantes externos tales como caries poco profundas, tallados protésicos, iatrogénias en operatoria dental, entre otros.

Si estos estímulos son tratados y diagnosticados a tiempo puede recuperarse la vitalidad pulpar²⁰.

El pronostico es favorable, sin embargo de permanecer el estimulo irritante la inflamación superficial deriva en una pulpitis irreversible o en una necrosis pulpar²⁰.

2.2.1.8. Pulpitis Irreversible

Es la inflamación de la pulpa sin capacidad de recuperación, a pesar de que cesen los estímulos externos causantes del proceso inflamatorio²⁰.

Este estado presenta dos formas clínicas: Pulpitis Irreversible Sintomática y Pulpitis Irreversible Asintomática.

La pulpitis irreversible en cualquiera de sus dos formas requiere tratamiento endodontico¹⁹.

Pulpitis Irreversible Sintomática

Se caracteriza por crisis espontáneas intermitentes o continuas de dolor¹⁹. Los cambios térmicos primordialmente, así como los cambios posturales son los que condicionan el dolor.

Dentro de las pulpitis irreversibles sintomáticas se diferencian las de predominio seroso y de predominio purulento.

Las de *predominio seroso*, se caracterizan por dolor intenso, espontáneo, continuo e irradiado, el cual se incrementa especialmente por las noches y al esfuerzo²⁰. Si la pulpitis es muy intensa y afecta la totalidad de la pulpa radicular los irritantes invaden el espacio periodontal, provocando dolor a la percusión y ensanchamiento radiológico del espacio periodontal²⁰.

Las de *predominio purulento*, se diferencian de la anterior por el carácter pulsátil del dolor y en que este se calma brevemente con la aplicación de frío²⁰. Cuando las bacterias son muy virulentas y de predominio anaerobio pueden provocar la aparición de microabcesos pulpares intracamerales²⁰.

Pulpitis Irreversible Asintomática

Puede desarrollarse por conversión de una pulpitis irreversible sintomática en un estado latente o por la acción de un irritante pulpar de baja intensidad¹⁹. La caries y los traumatismos son las causas más frecuentes.

La pulpitis irreversible asintomática puede presentarse en dos formas:
Hiperplásica y Ulcerada

Pulpitis Irreversible Asintomática Hiperplásica, la cual consiste en una proliferación indolora del tejido pulpar alrededor de una lesión cariosa. Se caracteriza por su abundante vascularización, por ser de consistencia fibrosa y por presentarse preferentemente en piezas jóvenes.

Pulpitis Irreversible Asintomática Ulcerada, se presenta a cualquier edad. Acostumbra a observarse una cavidad abierta en cuyo fondo se aprecia una comunicación pulpar y tejido de granulación que motiva el sangrado en la exploración o dolor en la impactación alimentaria²⁰.

2.2.1.9. Necrosis Pulpar

Definición

Es la muerte pulpar donde terminan todos los procesos metabólicos de este órgano, con pérdida de su estructura como consecuencia final de un proceso patológico en el cual la pulpa no pudo reintegrarse a la normalidad por no tener capacidad de reacción²². Es la muerte de la pulpa como resultado de una pulpitis irreversible no tratada o de una lesión traumática que interrumpa la irrigación sanguínea de la pulpa¹⁹. La necrosis pulpar puede ser parcial o total¹⁹.

Clínica y Diagnostico

Es completamente asintomática; siempre y cuando no afecte los tejidos periapicales. En estos casos, la existencia de sintomatología ya no dependerá propiamente del proceso pulpar, sino del periapical²⁰. Una pulpa inflamada puede evolucionar, en horas, hacia un estado necrotico¹⁹.

Causas

Se presenta por agresiones que ocasionan alteraciones pulpares evidentes, algunas veces leves pero persistentes y abandonadas a su propia evolución, o bien por lesiones destructivas y de gran intensidad²². La pulpitis irreversible conduce a la necrosis pulpar de forma progresiva; avanza hacia la pulpa en sentido centrípeto y desde la corona hacia el ápice²⁰.

Estas causas pueden comenzar su acción nociva en la periferia pulpar debido a la acción de agentes químicos, bacterianos, tóxicos y mecánicos; o bien en la porción pulpar apical, como podría ocurrir en un traumatismo²².

Patogenia

A medida que va disminuyendo el potencial de oxidoreducción hístico, el nicho ecológico microbiano de las pulpitis irreversibles asintomáticas (de respiración aerobia y anaerobia facultativa) se va transformando en un medio de respiración anaerobia estricta. Dentro de ellas, las bacterias anaerobias estrictas gram negativas son las de mayor capacidad proteolítica y colagenolítica, contribuyendo en gran medida en la destrucción del tejido conjuntivo pulpar.

En el caso de necrosis pulpares asépticas (provocadas por traumatismos) el tejido necrótico puede permanecer estéril y no parece afectar a los tejidos periapicales mientras este en este estado. Sin embargo, si este se infecta, la inflamación y las lesiones apicales son un hecho²⁰.

Cuando la pulpa muere, si el diente permanece no tratado, las bacterias, toxinas y productos de degradación proteica de la pulpa pueden extenderse más allá del foramen apical y afectar la región periapical, lo que determinara una enfermedad periapical¹⁹.

2.2.1.10. Patología Periapical

La relación entre enfermedad pulpar y periapical es muy estrecha, ya que la primera casi siempre es precursora de la aparición de la segunda y porque tienen algunas alteraciones en común como la inflamación y sus secuelas²².

La inflamación periapical de origen pulpar se debe a la llegada de toxinas bacterianas e incluso bacterias al periodonto apical, a través del orificio apical²⁰. Otra causa importante es la oclusión traumática, la cual también produce alteraciones en el periápice.

Los síntomas que el paciente puede presentar varían desde una ausencia de síntomas hasta una leve sensibilidad al masticar; o bien, desde sensación de alargamiento del diente hasta dolor intenso, hinchazón, fiebre alta o malestar general²⁰. Sin embargo, el signo más significativo de la patología periapical es sin duda la resorción ósea.

Podemos clasificar a las alteraciones periapicales en dos grupos: Alteraciones Apicales Agudas y Alteraciones Apicales Crónicas.

2.2.1.11 Alteraciones Apicales Agudas

Periodontitis Apical Aguda, se define como una inflamación localizada del ligamento periodontal en la región apical por invasión de microorganismos procedentes de una pulpitis y que se caracteriza por su agudeza, sin llegar a ser supurativa²². El paciente se queja de sentir un dolor espontáneo no muy intenso, localizado y que a veces llega a ser pulsátil, además de percibir ligera extrusión del diente²³. La evolución de la periodontitis serosa no tratada es desfavorable

para el diente y puede derivar a un absceso apical agudo o a una periodontitis crónica²⁰.

Absceso Apical Agudo, Este término implica la acumulación de exudado purulento alrededor del ápice con producción de dolor¹⁹. Se debe a la llegada de productos metabólicos terminales, bacterias o sus toxinas al periápice procedentes del conducto radicular de un diente con necrosis pulpar²⁰. Principia con dolor leve e insidioso, el cual se torna violento, intenso y pulsátil, acompañado por tumefacción dolorosa en la región periapical²². Existe la tendencia fistulizar a través de la cortical ósea. Radiográficamente, en su estado inicial se puede apreciar un ensanchamiento del espacio periodontal, pero tras unos días se observara una zona radiolúcida en el periápice.

2.2.1.12. Alteraciones Apicales Crónicas

Periodontitis Apical Crónica, o Absceso Dentoalveolar Crónico, puede ser definido como un proceso inflamatorio y/o infeccioso de poca intensidad y de larga duración localizado a nivel de los tejidos periapicales del diente y caracterizado por la presencia de una pequeña acumulación purulenta²³. Consiste en la formación de un exudado periapical purulento con un drenaje espontáneo hacia el exterior a través de un trayecto fistuloso²⁰. Su comportamiento clínico es asintomático, radiográficamente se observa una imagen radiolúcida, ya sean extensas o pequeñas y circunscriptas. Se debe tratar el conducto radicular infectado por medio de terapia endodóntica.

2.2.1.13. Granuloma

Masa localizada de tejido inflamatorio crónico que se forma en respuesta a la irritación proveniente del conducto radicular²³. Casi nunca produce sintomatología. Se produce como consecuencia de la llegada de toxinas y bacterias al periapice²⁰. El componente osteolítico es mayor en comparación con la actividad microbiana, lo cual se traduce en ausencia de fistula²⁰.

2.2.2. Microbiología De Las Infecciones Pulpaes Y Periapicales

Los dientes comparten el microambiente de la cavidad bucal con alrededor de 500 especies bacterianas²¹. La pulpa dental es una estructura que se encuentra rodeada casi completamente por dos tejidos: el esmalte y la dentina, que a manera de murallas la protegen de los microorganismos del medio.

Con este tipo de protección, naturalmente, una pulpa es aséptica y libre de gérmenes; por tanto, su presencia implica el deterioro de alguno de ellos.

En una infección endodóntica, la mayor parte de las bacterias son anaerobios estrictos, aunque también podemos encontrar un buen número de bacterias anaerobias facultativas y bacterias microaerófilas. Las bacterias anaerobias estrictas proliferan únicamente en ausencia de oxígeno pero tienen sensibilidad variable a este; funcionan a potenciales de Oxidación y Reducción bajos y generalmente carecen de las enzimas dismutasa de superóxido y catalasa.

Las bacterias microaerófilas pueden multiplicarse en un medio con oxígeno pero obtienen predominantemente su energía de vías anaerobias.

Las bacterias anaerobias facultativas se reproducen en presencia o ausencia de oxígeno y suelen tener enzimas dismutasa de superóxido y catalasa. Los aerobios obligados (estrictos) se encuentran en una mínima cantidad y requieren oxígeno para multiplicarse y poseen tanto dismutasa de superóxido como catalasa²⁴.

2.2.2.1. Vías de Invasión Bacteriana

Aunque hay varios caminos para que las bacterias lleguen a la pulpa, las bacterias pueden utilizar diversas puertas de entrada hacia la cavidad pulpar. El medio mas frecuente es la caries, en la cual poco a poco se aproximan hasta alcanzarlas²¹. En función de su magnitud y proximidad la patología se instaura rápidamente o de forma prolongada.

_Túbulos dentinarios, miden aproximadamente entre 0,5 – 1 u de diámetro en la periferia y hasta 3 – 5 u cerca de la pulpa²⁰, lo cual es lo suficientemente amplio como para permitir el paso de las bacterias. Una vez dentro de ellos, éstas avanzan por división hasta alcanzar el tejido pulpar.

_Defectos en el sellado marginal, facilitando el ingreso de bacterias a través de la interfase material – diente de determinados materiales de restauración cuando no son utilizados correctamente.

_Infección Periodontal, debido a la comunicación con el tejido pulpar. Una infección de la pulpa puede tener su origen en una patología periodontal. La vía más común de migración microbiana desde el periodonto hacia la cavidad pulpar se produce a través de los conductos laterales²⁰.

_Traumatismo, tienen su mayor incidencia entre la población infantil¹⁹. Desde la perspectiva microbiológica, los de mayor importancia son aquellos que comprometen la corona del diente y dejan expuesto el tejido pulpar. Esta posibilidad cobra mayor importancia en niños y pacientes jóvenes puesto que presentan túbulos de mayor calibre que en los adultos²⁰.

_Otras vías de infección, como por ejemplo lesiones periapicales en dientes vecinos que producen la necrosis de la pulpa mediante anacoresis²⁵, por la cual los microorganismos pueden ser transportados en la sangre o la linfa a una zona de inflamación como un diente con pulpitis, donde pueden establecer una infección²⁴.

2.2.2.2. Microbiología de los Conductos Radiculares en Necrosis Pulpar.

Cuando la pulpa se expone a la microbiota bucal a través de una cavidad, el tejido pulpar se ve expuesto a concentraciones mayores de productos microbianos. En esta situación, el tejido pulpar no consigue impedir la infiltración y la diseminación de los microorganismos o de sus productos y comienzan a desintegrarse porciones de la pulpa. La necrosis es inevitable y se crean condiciones favorables para una infección pulpar masiva²¹.

La mayor parte de las necrosis pulpares obedecen a infecciones polimicrobianas y mixtas que incluyen aerobios estrictos, anaerobios facultativos o microaerófilos como microorganismos concomitantes. Estos últimos, y los aerobios estrictos, disminuyen la tensión de oxígeno y el potencial de oxidorreducción en los tejidos. De este modo, proporcionan las condiciones favorables para que se desarrollen las bacterias estrictamente anaerobias²⁰.

La microbiota del conducto radicular de dientes no cariados con pulpa necrótica y enfermedad periapical esta dominada (>90%) por anaerobios estrictos por lo común pertenecientes a los géneros: *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Eubacterium* y *Peptostreptococcus*²⁵.

Estudios realizados en dientes temporales^{3, 18} reportan que en los conductos radiculares de dientes primarios con lesiones pulpares y periapicales existe una infección polimicrobiana con predominancia de microorganismos anaerobios, similar a los de la microbiota de dientes permanentes.

Entre estas, tenemos a las bacterias de pigmento negro (BPB), las cuales se han relacionado en varios estudios con los signos y síntomas clínicos²⁴; siendo la *P. nigrescens*, la mas comúnmente aislada tanto de conductos radiculares como de abscesos perirradiculares de origen endodóntico. Estas mismas bacterias han sido encontradas en piezas deciduas necróticas aproximadamente en un 30% de todos los casos estudiados, y en el 44 % de piezas temporales con retratamiento^{12, 26}. No se ha observado la asociación entre la presencia de BPB con el desarrollo de abscesos en dientes temporales.

Estos resultados muestran que las infecciones endodónticas en dientes deciduos son de carácter polimicrobiano, muy similares a aquellas en dientes permanentes.

Tabla 1. Bacterias aerobias y anaerobias facultativas aisladas en las necrosis pulpares²⁰

Forma	Tinción	Genero	Especie
Cocos	Grampositivos	Streptococcus	mitis
			milleri
			oralis
			intermedius
			morbiliorum
			constellatus
			mutans
			sanguis
			mitior
		Enterococcus	faecalis
			faecium
		Staphylococcus	aureus
epidermidis			
Bacilos	Grampositivos	Corynebacterium	xerosis
		Lactobacillus	catenaforme
			minutus
		Actinomyces	odontolyticus
			naeslundii
			israelii
			meyeri
			viscosus
		Propionobacterium	acnes
			propionicus
	Gramnegativos	Eiknella	corrodens
		Capnocytophaga	ochracea
		Actinobacillus	sp
			rectus
		Campylobacter	sputorum
			curvus
Levaduras	Candida		albicans
			glabrata
			guilliermondii
	Geotrichum		candidum

Tabla N° 2. Bacterias anaerobias estrictas aisladas en las necrosis pulpare²⁰.

Forma	Tinción	Genero	Especie
Cocos	Grampositivos	<i>Peptoestreptococcus</i>	<i>micros</i>
			<i>anaerobius</i>
			<i>prevotii</i>
			<i>magnus</i>
			<i>assacharolyticus</i>
	Gramnegativos	<i>Peptococcus</i>	<i>sp</i>
Bacilos	Grampositivos	<i>Eubacterium</i>	<i>alactolyticum</i>
			<i>lentum</i>
			<i>timidum</i>
			<i>brachy</i>
			<i>nodatum</i>
	Gramnegativos	<i>Porphyromonas</i>	<i>gingivalis</i>
			<i>endodontalis</i>
		<i>Prevotella</i>	<i>intermedia</i>
			<i>nigrescens</i>
			<i>oralis</i>
			<i>oris</i>
			<i>buccae</i>
			<i>melaninogenica</i>
		<i>Mitsoukella</i>	<i>sp</i>
		<i>Fusobacterium</i>	<i>nucleatum</i>
			<i>necrophorum</i>
			<i>fusiformis</i>
			<i>varium</i>
		<i>Selenomonas</i>	<i>sputigena</i>
		<i>Treponema</i>	<i>denticola</i>
			<i>socranski</i>
			<i>pectinovorum</i>
			<i>vincentii</i>

2.2.3 Materiales de Obturación de Uso Común en Tratamientos Pulpares de Piezas Temporales.

Las pastas obturadoras asumen un papel fundamental para que la reparación de los elementos dentarios se desenvuelva de acuerdo a los patrones biológicos normales.^{30, 31}

Por tanto se torna fundamental la utilización de un medicamento que imposibilite la sobrevivencia de microorganismos^{30, 32}.

Los criterios necesarios para el material obturador ideal en dientes deciduos son los siguientes:

- _Presentar un grado de reabsorción semejante al de la raíz del diente
- _Ser inofensivo a los tejidos periapicales y al germen del diente permanente
- _Ser reabsorbible en casos de extravasación de material.
- _Poseer propiedades antisépticas
- _Ser aplicado con facilidad y poseer buena adhesión a las paredes de los conductos.
- _Poder ser removido fácilmente.
- _Ser radiopaco y no pigmentar el diente^{30, 33, 34, 35}.

Dentro de las pastas obturadoras encontradas, las más utilizadas en Odontopediatría son: Óxido de Zinc – Eugenol, Pastas Iodoformadas (Pasta Kri) y aquellas que utilizan Hidróxido de Calcio en su composición (Vitapex)³⁵.

2.2.3.1. Óxido de Zinc - Eugenol

El Óxido de Zinc Eugenol (ZOE) ha sido el material de elección por muchos años, especialmente en los Estados Unidos, donde es empleado por el 94% de las Universidades de Odontología^{30, 37}. El rango de éxito clínico utilizando este material varía del 68,7 % al 86,1%^{30, 39}. Aunque este agente ha demostrado en varios estudios su efecto antibacteriano contra cultivos puros^{4, 40} se ha visto que combinado con formocresol incrementa su efecto antibacteriano^{4, 42}.

Estudios In vitro han demostrado que a pesar de su alto efecto antibacteriano el ZOE por si solo no podía inhibir a Escherichia coli, S. aureus o Streptococcus viridans; sin embargo, se observó que gracias a la inclusión de Acetato de Zinc estos tres microorganismos pudieron ser inhibidos³⁸.

Propiedades:

- _Promueve la neoformación ósea
- _Es fácil de introducir dentro de los conductos radiculares sin perder plasticidad.
- _Es denso.
- _No muestra señales de contracción.
- _No es soluble ante los fluidos orales.

En contrapartida, se ha observado poca adhesividad y reacciones inflamatorias residuales ante restos de material extravasado. Además se ha observado que la reabsorción de un diente obturado con ZOE es mas lenta al compararse con un diente homólogo^{3, 43}.

2.2.3.2. Pasta Kri

La pasta Kri es un material obturador utilizado en dientes deciduos, compuesta por Yodoformo, Paramonoclorofenol, Alcanfor y Mentol ³⁰. La aparición de este material impulso la realización de estudios en dientes deciduos, donde se observó su posible acción bactericida, facilidad de inserción, capacidad de penetración, rápida reabsorción del material extravasado, sustitución de tejido de granulación por tejido de reparación y ausencia de efectos desfavorables en los elementos sucesores ^{30, 31}.

Estudios realizados avalan el éxito clínico y radiográfico de los dientes deciduos tratados endodónticamente con la pasta KRI ^{30, 32}; obteniendo el 89% de éxito en molares deciduos y con seguimiento de un año. También se ha constatado su facilidad de remoción en casos de retratamiento, reabsorbiéndose en 2 o 3 semanas sin daños en la pieza sucedánea.

Un estudio realizado comparando la pasta KRI con el ZOE dio como resultado un 84% de éxito contra un 65% de éxito respectivamente en molares deciduos. La pasta KRI fue superior al ZOE en la inhibición de *Streptococcus Faecalis* in vitro ³, ³⁶ y presentó mejores resultados en cuanto a la reabsorción de material extravasado.

2.2.3.3. Pasta de Hidróxido de calcio

El Vitapex es una pasta hecha a base de Yodoformo e Hidróxido de calcio, contiene los siguientes ingredientes: YodoFormo (40,4%), Hidróxido de Calcio (30%), Aceite de Silicona (22,4%) y otros componentes (6,9%).

Propiedades:

_Velocidad de reabsorción similar a la del diente temporal.

_Radiopacidad.

_Fácil manipulación

_Fácil colocación dentro del conducto.

_Bajo índice de reacciones secundarias

_Capacidad antibacteriana

_Estabilidad física y química ⁴⁴.

Estudios experimentales empleando Vitapex han demostrado su eficacia al 94%, observándose inclusive formación de puente dentinario en la superficie del tejido residual y cierre de área periapical en un plazo de 60 días por la formación de un puente de cemento. A su vez se observó que el periodonto de las piezas obturadas se encontraba saludable.

En cuanto al efecto antibacteriano existen opiniones contradictorias, se ha demostrado su actividad inhibitoria contra *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aerus* y *Lactobacillus casei*, sin embargo, otros estudios ^{3,13} señalan su escasa actividad antibacteriana ubicándolo en los últimos lugares, junto al Hidróxido de calcio puro y la Vaselina. Esto unido al frecuente aparecimiento de reabsorción interna de las piezas tratadas ha hecho que disminuya notablemente su uso en la práctica clínica ^{30, 45}.

2.2.4. La Pasta 3Mix – MP

2.2.4.1. Definición

La pasta 3Mix ha sido desarrollada durante los últimos años como una manera novedosa de tratar las piezas deciduas necróticas indicadas para tratamientos de pulpectomías, facilitando su procedimiento y mejorando los resultados clínicos. El los últimos años la Facultad de Odontología de la Universidad de Nigata, en Japón ha desarrollado el concepto de “Esterilización de Lesiones y Reparación Tisular”, o también denominada terapia LSTR, la cual emplea una mezcla de antibióticos para la desinfección de infecciones orales producidas por piezas dentarias y la cual se basa en el empleo de esta pasta; la misma que tiene la capacidad de difundirse a través de los conductos radiculares hasta la zona periapical y ejercer su acción bactericida in situ.

Los estudios realizados^{2, 4, 5, 7, 8, 9} han demostrado que 3Mix es capaz de eliminar las bacterias de tejidos dentales infectados de dientes deciduos y permanentes, constituyéndose como una excelente alternativa para piezas deciduas indicadas para tratamientos de pulpectomía.

Otros estudios han demostrado su eficacia en tratamientos endodónticos en piezas permanentes^{6, 10, 12, 13} como por ejemplo como medicación intraconducto en casos de re-tratamientos, infecciones recurrentes por *Enterococcus faecalis* o en casos de lesiones periapicales crónicas producto de perforaciones radiculares. Sin embargo son estudios preliminares aunque no por ello menos importantes.

2.2.4.2. Componentes

La pasta 3Mix-Mp consta de dos partes: Polvo y Líquido. El polvo esta formado por una combinación de tres antibióticos los cuales son: Metronidazol, Ciprofloxacina y Minociclina en una proporción de 1:1:1; y la parte liquida esta formado por una combinación de Macrogol y Propylen Glicol, también en proporción 1:1, estos últimos actúan como vehículos transportadores de los antibióticos.

A. Sólidos

A.1. *Metronidazol*

El Metronidazol y los Nitromidazoles relacionados son antibióticos que tienen actividad in vitro contra una amplia variedad de parásitos protozoarios anaerobios ⁴⁶. Posee actividad antibacteriana contra todos los cocos anaerobios y bacilos gramnegativos anaerobios, incluidas especies de bacteroides y bacilos grampositivos esporógenos anaerobios, los bacilos grampositivos no esporulados son resistentes al igual que las bacterias anaerobias facultativas y las aerobias⁴⁶.

Su uso esta indicado en infecciones anaerobias y parasitarias. El Metronidazol ejerce su efecto bactericida al inhibir la síntesis de ácidos nucleicos en los microorganismos obligadamente anaerobios, independientemente de la fase de crecimiento bacteriano ⁴⁷.

Se absorbe bien por vía oral (aproximadamente al 80%), atraviesa la placenta y la barrera hematoencefálica. Su unión a proteínas plasmáticas es baja solamente del 10 al 20%, aproximadamente. Su tiempo de vida media es de 8 horas. Se

metaboliza principalmente en el hígado. Un 60 a 80% de la dosis se elimina por vía renal, la mitad como metronidazol y el resto como metabolitos.

En cuanto a sus efectos adversos los más comunes son cefaleas, náuseas, xerostomía y un gusto metálico. A veces surgen vómitos, diarrea y molestias abdominales. No se recomienda su uso simultáneo con alcohol, porque puede producir acumulación de acetaldehído por interferencia con la oxidación con el alcohol.

A.2. Ciprofloxacina

La Ciprofloxacina es una Quinolona de segunda generación, perteneciente al grupo de las Fluoroquinolonas.

Estos antimicrobianos ejercen un efecto bactericida por inhibición selectiva de la síntesis de ADN en la bacteria:

- Inhibiendo a la ADN – girasa, una enzima necesaria para la replicación del ADN y algunos aspectos de la transcripción, recombinación y transposición.

- Inhibiendo la relajación del ADN súper duplicado y promoviendo la ruptura del ADN doble cadena.

La vida media plasmática de la Ciprofloxacina varía de 3 a 5 horas. Se absorbe adecuadamente después de ingerirla y se distribuye de manera amplia en los tejidos corporales (Próstata, hueso, pulmón, tejidos blandos y líquido pleural) ⁴⁶.

Ingerir alimentos después de los fármacos no altera su absorción.

Entre sus aplicaciones terapéuticas se considera su uso en: Infecciones de las vías urinarias, enfermedades venéreas, infecciones del tubo digestivo y abdomen, infecciones de huesos, articulaciones y tejidos blandos; entre otras.

Las reacciones adversas a este medicamento son bien toleradas. Los efectos adversos más comunes atribuidos a las fluoroquinolonas son los relacionados al tracto gastrointestinal, seguidos por síntomas neuropsiquiátricos y reacciones de hipersensibilidad ⁴⁷. La Ciprofloxacina posee buena actividad contra enterobacterias como E. coli, Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter y Proteus. Entre los grampositivos se destaca la acción contra Staphylococcus aureus, S. epidermidis y Staphylococcus saprophyticus. Su eficacia contra cocos grampositivos es menos que la de los betalactámicos y macrólidos. Los anaerobios Bacteroides fragilis, Clostridium, Peptococcus y Peptostreptococcus son todos resistentes⁴⁷.

Las Quinolonas y especialmente la Ciprofloxacina ha sido utilizada en infecciones periapicales refractarias al tratamiento endodóntico. La elevada incidencia de aislamiento de Pseudomona aeruginosa en estas lesiones periapicales recidivantes y la resistencia mostrada frente a las penicilinas, carbenicilina y metronidazol motivaron la utilización con éxito de la Ciprofloxacina, obteniendo semejantes resultados frente a Enterobacter, Acinetobacter y Klebsiella ²⁰.

A.3. Minociclina

Las Tetraciclinas son antibióticos bacteriostáticos de amplio espectro; actúan contra una amplia gama de bacterias grampositivas y gramnegativas anaerobias y aerobias. Son también eficaces contra algunos microorganismos resistentes a antimicrobianos activos contra la pared bacteriana⁴⁶.

Las Tetraciclinas son activas contra muchos microorganismos anaerobios y facultativos; su actividad tiene particular importancia contra Actinomyces. Los tratamientos prolongados con tetraciclinas facilitan el desarrollo de cepas

resistentes a estos antibióticos, en concreto bacterias grampositivas, después de cuatro semanas de tratamiento²⁰. Actúan inhibiendo la síntesis de proteínas a través de su unión reversible con la sub -unidad 30S; para llegar a su sitio de acción se requiere que el antibiótico atraviese sucesivamente la membrana celular externa e interna⁴⁷.

La Minociclina se absorbe de forma casi completa en el tracto gastro intestinal. En el plasma se une de forma significativa con las albúminas en un porcentaje aproximado del 80%. Su tiempo de vida media es también prolongado, de 15 a 20 horas aproximadamente. Se elimina de forma lenta en la orina, por filtración glomerular y por vía fecal.

Se indica en infecciones diversas, especialmente en infecciones de la piel y de tejidos blandos.

El uso prolongado de tetraciclinas ocasiona efectos sobre huesos y tejido dentario, ya que estas se depositan especialmente en los huesos y dientes del feto, lactantes y niños hasta los ocho años. Durante la infancia la acumulación de tetraciclinas imprime a los dientes una coloración amarillenta que con el tiempo puede transformarse en marrón⁴⁷. Consecutivamente puede haber hipomineralización, y por lo tanto mayor propensión a la caries dental. Otra característica, es que estas se depositan en el esqueleto durante la gestación y la infancia, habiéndose demostrado una depresión del 40% del crecimiento óseo en los niños prematuros tratados con estos agentes. Por esta razón no se recomienda su uso en niños de hasta ocho años de edad.

B. Líquidos (Vehículos)

B.1. Propylen glicol

Se define como un líquido incoloro, viscoso e higroscópico. Las propiedades físicas del Propylen glicol ($\text{CH}_3\text{CHOHCH}_2\text{OH}$) son semejantes a la del Etilenglicol, pero mucho menos toxico. Por esta razón esta sustancia se utiliza como solvente en fármacos, cosméticos, lociones y ungüentos; en productos alimenticios; como plastificador; en presentaciones anticongelantes; en el intercambio calórico y en líquidos hidráulicos.

A semejanza del etanol, su acción farmacológica primaria es deprimir el SNC; sin embargo, su eliminación es mas lenta y su efecto mas prolongado⁴⁶.

Está implicado en la dermatitis por contacto, daño en el riñón y anormalidades en el hígado; en pruebas realizadas, puede inhibir el crecimiento de las células de la piel en pruebas de humanos, puede dañar las membranas celulares causando irritación o sarpullido, piel seca y daño en la superficie. Una publicación clínica muestra que el "PROPYLEN GLICOL" causa un número significativo de reacciones y es el primer irritante de la piel, aún en niveles de baja concentración⁴⁸.

Tiene la capacidad de penetrar en la dentina mas rápida y efectivamente que el agua destilada⁸, por lo que se le indica como vehiculo eficaz para distribuir un medicamento en el interior de los conductos radiculares.

B.2. Macrogol

Se utiliza como vehiculo en farmacología dermatológica. Los polietilenglicoles o macrogles son productos de policondensación de óxido de etileno y agua; su

consistencia varía conforme a la longitud de la cadena: el polietilenglicol 300 es líquido, el 400 es semisólido y el 4000 es sólido.

Es altamente soluble en agua y en solución salina acuosa, así como en soluciones ácidas o alcalinas (excepto por concentraciones ácidas o alcalinas extremas). Es prácticamente insoluble en alcohol, éter y en aceites grasos y aceites minerales. Su solución acuosa muestra excelente lubricación. Se descompone en altas temperaturas y no deja residuos⁵⁰.

2.2.4.3. Preparación de la pasta 3 Mix-Mp

La pasta 3 Mix – Mp tiene como principal indicación ser preparada el mismo día del tratamiento. Para su preparación se adquirirán los medicamentos en su forma comercial, debiendo ser conservados en sus respectivos empaques. La preparación de la pasta 3 Mix – Mp debe ser hecha preferentemente por el operador para estar seguro de la consistencia ideal y de las proporciones correctas.

La preparación de 3Mix- MP puede ser usada durante el día, sin embargo, la cantidad de 3Mix-MP sobrante deberá ser eliminada al final de las horas de trabajo.

Para esto se necesita:

_Tres recipientes con las drogas pulverizadas (antes de la pulverización es necesario retirarle la cubierta azucarada).

En caso de guardarse estos recipientes en un refrigerador, se debe esperar antes de abrir la tapa hasta que la temperatura de los recipientes llegue a ser igual a la temperatura del cuarto, para evitar la formación de gotas de agua.

- _ Una superficie de vidrio limpia y seca o de papel con una espátula
- _ El cuarto recipiente para mantener el preparado de 3Mix

Procedimiento:

- 1) Usando una espátula, tomar el Metronidazol en polvo sobre la platina. Secar y limpiar la espátula para evitar contaminación del Metronidazol con la siguiente droga en polvo.
- 2) Usando una espátula limpia y seca, colocar la misma cantidad de Minociclina (MINO) en polvo sobre la superficie de mezcla. Limpiar y secar la espátula para evitar la contaminación de la Ciprofloxacina.
- 3) Realizar la misma acción con la Ciprofloxacina y usando exactamente la misma cantidad.
- 4) Mezclar estos tres componentes (3Mix)

<i>Metronidazol: Minociclina: Ciprofloxacina = 1:1:1</i>

En otra área de la platina, tomar una parte de PropyleneGlicol (P) y el mismo volumen de Macrogol (M). Mezclar bien hasta formar un solo compuesto líquido (MP) de textura similar a la crema batida.

<i>M:P = 1:1</i>

Finalmente, para la preparación Standard de 3Mix-Mp, mezclar una parte de MP contra 7 partes de 3Mix

$3Mix : MP = 7:1$

La cantidad de pasta remanente puede quedar sobre la platina pero es mejor conservarla en un recipiente pues puede correr riesgo de secarse.

2.2.4.4. Procedimiento Clínico de la Técnica LSTR en el Tratamiento Endodóntico con la Pasta 3Mix – MP

- _Profilaxis de la pieza con copas de goma o escobillas.
- _Aplicación de anestesia local (de ser necesario).
- _Aislamiento absoluto del campo operatorio.
- _Remoción del tejido cariado con fresas y pieza de alta velocidad o curetas estériles.
- _Apertura cameral y eliminación del tejido pulpar residual.
- _Conformación de pequeñas cavidades a la entrada de los conductos que alojen a la Pasta 3Mix- MP (1 mm. de profundidad x 2 mm. de diámetro).
- _Irrigación profusa con Cloruro de Sodio; en caso de presentarse abundante sangrado se sugiere detenerlo con torundas pequeñas de algodón embebidas en esta solución.
- _Retirar el exceso de humedad.
- _Colocar la pasta 3 Mix – MP en las cavidades preparadas anteriormente, de no poderse realizar extender la pasta 3 Mix – MP por el piso de la cámara pulpar.

_Sellar la cavidad con un cemento de obturación temporal (Policarboxilato o Eugenato)

_Controlar la oclusión.

_Tomar radiografía de control al finalizar el procedimiento.

Se deberá realizar controles radiográficos periódicos, empezando una semana posterior al tratamiento, posteriormente a los tres meses, seis meses y al año; hasta verificar que los signos y síntomas clínicos hayan desaparecido y la expoliación de la pieza sea exitosa.

2.3. Planteamiento del Problema

Las lesiones periapicales en piezas temporales son un problema común en la Odontopediatría. Cuando el agente agresor avanza, ya sea lenta o rápidamente, éstas pasan de ser clasificadas de pulpitis a un estado progresivo denominado clínicamente necrosis pulpar. La necrosis pulpar puede presentar las siguientes características: generalmente asintomática, algunas veces se observa dolor ya sea espontáneo o provocado con respuesta positiva a la prueba de la percusión y sin respuesta a pruebas térmicas; la pieza afectada muchas veces cambia de coloración, puede presentar ligera movilidad y radiográficamente podemos apreciar engrosamiento del ligamento periodontal o una imagen radiolúcida en la zona periapical.

Ante estos casos el tratamiento indicado es el procedimiento de la pulpectomía; Mc Donald¹ indica que este tratamiento debe llevarse a cabo en piezas

temporales necróticas siempre y cuando los conductos sean accesibles y si existe evidencia normal del hueso de soporte. El objetivo es eliminar la infección de piezas temporales en boca, evitando probables efectos nocivos; así como también preservar la pieza en funcionamiento hasta su exfoliación y evitar el cierre de espacios.

La desventaja de este procedimiento es su complejidad para llevarse a cabo, pues implica un número mayor de pasos operatorios, el uso de aislamiento absoluto y de instrumentación. Todo esto, sumado a la ansiedad del paciente conduce muchas veces al fracaso clínico. Desde 1984 se ha intentado realizar tratamientos pulpaes en base a diversas combinaciones de antibióticos con resultados variados. T. Takushige y col². desarrollaron la pasta antibiótica 3 Mix – Mp, a base de Minociclina, Metronidazol y Ciprofloxacina, la cual desinfecta la lesión sin necesidad de instrumentar los conductos radiculares, introduciendo el concepto de “Esterilización de conductos”, es decir, la erradicación total de las bacterias causantes de la patología. Estos tres antibióticos son conocidos por ser de amplio espectro a pesar de no ser de uso común en la práctica odontológica. Se han realizado estudios in vitro y en vivo que demuestran su efectividad; sin embargo, en nuestro medio no se han realizado investigaciones que confirmen sus propiedades antibacterianas, y es en base a este punto que se considera necesario evaluar microbiológicamente su respuesta ante microorganismos anaerobios prevalentes en pulpas necróticas.

2.3.1. Delimitación

El presente trabajo buscará evaluar el efecto antimicrobiano de los componentes sólidos de la pasta 3Mix-MP y proponerla como alternativa eficaz al tratamiento de pulpectomía mediante la desinfección antibiótica de los microorganismos causantes de necrosis pulpar, sin tener que realizar instrumentación de los conductos radiculares.

Para esto es necesario un estudio complementario del tipo microbiológico in vitro. Se estudiara la susceptibilidad antibiótica a la combinación de drogas 3 Mix (Metronidazol, Ciprofloxacina y Minociclina) de los microorganismos causantes de la necrosis pulpar y se evaluara su eficacia en microorganismos anaerobios estrictos y facultativos.

Este estudio será llevado a cabo en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la UNMSM y se emplearan cepas patrones (ATCC®) de bacterias anaerobias estrictas y facultativas prevalentes en Necrosis Pulpar.

2.4. Justificación

Durante mucho tiempo el tratamiento pulpar en niños ha sido considerado como la mejor opción para conservar las piezas deciduas en funcionamiento hasta su exfoliación de manera natural. Las piezas temporales con infección perirradicular constituyen un problema importante dentro de la Odontopediatría. Sin embargo, muchas veces los pacientes vienen con sintomatología de varios días y se muestran resistentes, ansiosos y poco colaboradores al tratamiento odontológico de conductos, el cual resulta de difícil realización debido a los pasos que hay que

realizar y el tiempo que requiere. Es por estas razones que muchas veces los tratamientos de pulpectomías terminan en fracasos clínicos.

La combinación de drogas antibacterianas 3 Mix, precursora de la pasta 3Mix – Mp ha sido desarrollada como una alternativa al tratamiento de pulpectomía ya que propone la “esterilización” o erradicación total de las bacterias presentes en los conductos radiculares infectados, sin realizar instrumentación de estos, así como la posterior reparación de la lesión perirradicular en base a sus fuertes propiedades antibióticas.

Existe poca información en nuestro país acerca de las características, propiedades y empleo de la Pasta 3Mix – Mp, siendo la gran mayoría de información que se maneja de origen extranjero. El presente trabajo pretende evaluar el efecto antimicrobiano de ésta combinación de drogas antibacterianas y otorgar el sustento necesario para proponer a la pasta 3 Mix – MP como alternativa eficaz al tratamiento de pulpectomía mediante la desinfección antibiótica de los microorganismos causantes de la patología.

2.5. Objetivos de la Investigación

2.5.1. General:

- Determinar si la combinación de drogas 3 Mix (Metronidazol Ciprofloxacina y Minociclina) es efectiva contra las bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar

2.5.2. Específicos:

- Determinar si la combinación de drogas 3 Mix es efectiva contra microorganismos anaerobios estrictos.
- Determinar si la combinación de drogas 3 Mix es efectiva contra microorganismos anaerobios facultativos.
- Evaluar el grado de efectividad de los componentes de la combinación de drogas 3 Mix sobre los microorganismos anaerobios estrictos
- Establecer el grado de efectividad de los componentes de la combinación de drogas 3 Mix sobre los microorganismos anaerobios facultativos.

2.6. Hipótesis

Hi: La combinación de drogas 3 mix inhibe a las bacterias anaerobias estrictas y facultativas prevalentes en necrosis pulpar.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. Tipo de Investigación

Las características de la investigación a realizarse y de acuerdo a los objetivos planteados determinan un estudio de tipo experimental, in vitro; prospectivo, y transversal.

-Experimental, porque se pretende determinar el comportamiento de las bacterias anaerobias estrictas y facultativas frente a la combinación de drogas y establecer una asociación entre los resultados que se obtengan para posteriormente otorgar una base a otros estudios.

-In vitro, porque será llevado a cabo en laboratorio.

-Prospectivo, porque la información será registrada conforme vayan ocurriendo los hechos.

-Transversal, porque se evaluarán los resultados en un mismo momento de observación.

3.2. Población y muestra

3.2.1. Universo

Las bacterias anaerobias y aerobias presentes en una pulpa necrótica.

3.2.2. Tamaño total de la muestra

Considerando que una necrosis pulpar es producto de una infección polibacteriana y teniendo en cuenta que la literatura refiere una mayor prevalencia de microorganismos anaerobios, tanto estrictos como facultativos, es que se consideró 6 de los principales géneros anaerobios (3 facultativos y 3 estrictos) causantes de esta patología.

3.2.3. Tipo de Muestreo

Muestreo no probabilístico por conveniencia.

3.2.4. Unidad de Análisis

Cepas bacterianas anaerobias estrictas (Cepas ATCC®) : Porphyromonas gingivalis, Prevotella melaninogenica, Peptostreptococcus anaerobius; y anaerobias facultativas: Streptococcus mitis, Lactobacillus acidophilus, Actinomyces odontolyticus, identificadas por género y especie.

3.3. Operacionalización De Variables

Variable	Dimensiones	Indicadores	Escala
Combinación de drogas 3 Mix (Variable independiente)	1. Componentes de la combinación de drogas 3Mix:		
	Metronidazol	Presencia ó Ausencia de cada componente	_Si _No
	Ciprofloxacina	Presencia ó Ausencia de cada componente	_Si _No
	Minociclina	Presencia ó Ausencia de cada componente	_Si _No
	2. Metronidazol, Ciprofloxacina y Minociclina	Presencia ó Ausencia de cada componente	_Si _No

Efectividad Antimicrobiana ante Bacterias Anaerobias (Variable dependiente)	Bacterias Anaerobias estrictas: Peptostreptococcus, Porphyromonas, Prevotella	Halo de crecimiento bacteriano (medido en mm. de diámetro)	- Si - No
	Bacterias Anaerobias Facultativas: Streptococcus, Lactobacillus, Actinomyces	Halo de crecimiento bacteriano (medido en mm. de diámetro)	- Si - No

3.4. Materiales y Métodos

3.4.1. Procedimientos y Técnicas

3.4.1.1. Procedimientos para la selección de la muestra

1. Criterios de Inclusión

- Bacterias anaerobias estrictas y facultativas reportadas como más prevalentes en Necrosis pulpar.
- Bacterias que no hayan sufrido efecto alguno de los antibióticos.

2. Adquisición de la Muestra

Se usaron 6 cepas bacterianas (anaerobias estrictas y facultativas) previamente identificadas por género y especie obtenidas del laboratorio Microbiologics®.

- | | |
|---------------------------------|--------------|
| - Peptostreptococcus anaerobius | ATCC® 27337 |
| - Porphyromona gingivalis | ATCC® 33277 |
| - Prevotella melaninogenica | ATCC ® 25845 |
| - Actinomyces odontolyticus | ATCC® 25586 |
| - Lactobacillus acidophilus | ATCC® 4356 |
| - Streptococcus mitis | ATCC® 6249 |

3.4.1.2. Procedimientos de Laboratorio

3.4.1.2.1. Determinación de las CIM

Para el presente estudio se decidió emplear las Concentraciones Inhibitorias Mínimas al 90% con la finalidad de observar una mayor inhibición del crecimiento bacteriano, según lo referido en los antecedentes.^{56,66,68,69,70,71,72} . Estas cantidades fueron extraídas de las tablas Standard de Susceptibilidad Antibiótica establecidas en los documentos M11-A7 y M100-S14 del Clinical and Laboratory Standards Institute® (Anteriormente NCCLS®) para microorganismos anaerobios (estrictos y facultativos) y aerotolerantes.

Para *Peptostreptococcus anaerobius*, *Porphyromona gingivalis*, *Prevotella melaninogenica*, *Actinomyces odontolyticus*, *Lactobacillus acidophilus* las CIM90 de cada antibiótico fueron⁶²:

Metronidazol: 8ug/ml.

Ciprofloxacina: 4ug/ml.

Minociclina: 4 ug/ml

Para *Streptococcus mitis* las CIM90 de cada antibiótico fueron⁶³:

Metronidazol: 2ug/ml.

Ciprofloxacina: 4ug/ml.

Minociclina: 2 ug/ml.

Las CIM90 del metronidazol para *Streptococcus mitis* no ha sido establecida en la tabla M100-S14 por lo que se decidió usar la cantidad de 2ug/ml. Del mismo modo se decidió emplear para Ciprofloxacina la CIM90 de categoría intermedia

pues para el grupo de las quinolonas solo se han realizado estudios para Moxifloxacin.

3.4.1.2.2. Preparación de las Soluciones

Las soluciones que se emplearon en el presente trabajo de investigación fueron:

_Solución de Metronidazol en Acido Acético Glacial (8mg/10ml)

_Solución de Ciprofloxacina en Agua Destilada (4mg/10ml)

_Solución de Minociclina en Agua Destilada (4mg/10ml)

_ ***Solución de la combinación de drogas 3 Mix***, conformada por la unión de las tres soluciones antes mencionadas en cantidades equivalentes.

_Solución control: Agua bidestilada (control negativo)

Sólo para el caso del Streptococcus mitis las soluciones empleadas fueron:

_Solución de Metronidazol en Acido Acético Glacial (2mg/10ml)

_Solución de Ciprofloxacina en Agua Destilada (4mg/10ml)

_Solución de Minociclina en Agua Destilada (2mg/10ml)

_ ***Solución de la combinación de drogas 3 Mix***, conformada por la unión de las tres soluciones antes mencionadas en cantidades equivalentes.

_Solución control: Agua bidestilada (control negativo)

A. MATERIALES E INSTRUMENTOS

- Metronidazol (Sigma – Aldrich Co. ®)
- Minociclina (Sigma – Aldrich Co. ®)
- Ciprofloxacina (AppliChem®)
- Acido acético glacial
- Agua Bidestilada
- Tubos de ensayo varios
- Gradilla
- Pipetas de vidrio de 1 ml
- Matraces de vidrio
- Mechero
- Balanza de precisión (0.001 g) marca OHAUS ®

B. PROCEDIMIENTO

Para la preparación de cada una de las soluciones se emplearon antibióticos en su forma pura. Todas las cantidades fueron estrictamente pesadas en una balanza electrónica de precisión (hasta 0.001 g.) y separadas antes de ser disueltas. Posteriormente fueron incorporadas en los tubos de ensayo conteniendo sus respectivos solventes y mezcladas hasta lograr un aspecto uniforme. La solución correspondiente a la Combinación de Drogas 3Mix se realizó extrayendo cantidades equivalentes de cada tubo para luego ser reunidas en un tubo de ensayo estéril vacío. Cada solución fue descartada luego de su utilización.

3.4.1.2.3. Prueba de Susceptibilidad Antibiótica. Método de Difusión en Discos (Kirby – Bauer)

A. INSTRUMENTOS Y MATERIALES

- Medios de cultivo para sensibilidad antibiótica
 - Agar Schaedler – Sangre
 - Agar Mitis Salivaris
- Medios de cultivo enriquecidos
 - Agar Schaedler (Remel ®)
 - Agar Rogosa (Merck ®)
 - Agar Mitis Salivaris (Himedia®)
- Sistema Generador de Anaerobiosis
 - Jarra de Anaerobiosis
 - Anaerocult A (Merck)
 - Anaerogas pack (Himedia)
 - Sobres para anaerobiosis. Anaerocult C (Merck)
- Placas petri
- Asa de Siembra
- Tubos de ensayo
- Agua destilada estéril
- Laminas porta y cubre objetos
- Reactivos para coloración Gram
- Discos de papel filtro estériles para pruebas de susceptibilidad antibiótica
- Pinza Porta Discos
- Mechero

- Estufa a 37°C
- Micropipeta
- Pipetas de vidrio de 1ml. y 10 ml.
- Regla
- Tubos de ensayo estándar para medir Turbidez (Bio – Merieux S.A. ®)
- Hisopos estériles para siembra
- Microscopio
- Cámara fotográfica

B. PROCEDIMIENTO

B.1. Reactivación de las cepas

Cada una de las cepas ATCC® se mantuvieron en condiciones de refrigeración normal (2 – 8 °C) desde el momento de su adquisición hasta su reactivación en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Las cepas estuvieron contenidas en sus respectivos envases Kwik – Stick™, luego de retiradas de su envase y siguiendo todas las instrucciones (Ver Anexo N°1) fueron sembradas en una placa conteniendo un medio de cultivo enriquecido y bajo las condiciones de anaerobiosis necesarias para cada bacteria. Este paso se realizó en un tiempo no mayor a 5 minutos.

Luego de la siembra las placas fueron colocadas en una jarra de anaerobiosis hasta comprobar la reactivación de la cepa (2 a 7 días).

Adicionalmente y como procedimiento confirmatorio se les realizó una coloración gram a cada una de ellas.

B.2. Prueba de susceptibilidad antibiótica

Luego de obtenidas las especies se procedió a realizar la siembra de cada una de las especies bacterianas en placas petri (por triplicado) con los medios y en condiciones de anaerobiosis respectivas a cada especie bacteriana. Al mismo tiempo se realizó la prueba de susceptibilidad a la Combinación de drogas 3Mix y a cada uno de sus componentes mediante el método de Difusión en Agar (Antibiograma, Método de Kirby – Bauer)

- Se extrajeron con asa de siembra 3 o 4 colonias de la cepa reactivada y se inocularon en 4 – 5 ml. de agua destilada estéril para llegar a obtener una turbidez de 1 en la escala Mc. Farland ⁶⁸
- Con un hisopo estéril embebido en la suspensión mencionada, se procedió a realizar una siembra por diseminación. Las cepas *Peptostreptococcus anaerobius*, *Porphyromona gingivalis*, *Prevotella melaninogenica*, *Actinomyces odontolyticus*, *Lactobacillus acidophylus* fueron sembrados en Agar Schaedler suplementado con sangre de carnero; en tanto que el *Streptococcus mitis* fue sembrado en Agar Mitis Salivarius. Este paso se realizó en un tiempo no mayor a 15 minutos.
- Cada una de las 6 especies bacterianas fueron sembradas por triplicado, de manera que al final se obtuvo un total de 24 placas petri.
- Se dejaron secar de 2 a 3 minutos.
- Utilizando una pinza estéril se colocaron los 05 discos estériles para antibiograma en cada una de las placas, a una distancia no menor de 15 milímetros entre ellos y a 1,5 cms. del borde de la placa, presionándolos firmemente sobre la superficie del agar.

- Con la ayuda de una micropipeta se depositaron en los discos 10 microlitros de cada una de las soluciones anteriormente mencionadas.
- Las placas conteniendo las bacterias anaerobias estrictas fueron transportadas de inmediato hacia la jarra de anaerobiosis y colocados en una estufa a 37°C por 24 - 48 horas, esperando la inhibición del crecimiento bacteriano.
- Las placas conteniendo las bacterias anaerobias facultativas fueron transportadas hacia la jarra de anaerobiosis con una vela en su interior para la generación de CO₂ (anaerobiosis moderada) y luego colocadas en una estufa a 37°C por 24 – 48 horas, esperando la inhibición del crecimiento bacteriano.
- Los halos formados fueron medidos con una regla sobre la superficie de la placa Petri y con luz refleja. Estos fueron comparados con el halo obtenido luego de aplicar la combinación de drogas 3Mix.

3.4.2. Recolección de Datos

Se realizó una ficha de datos (ver anexo 3) en el cual se anotaron los resultados obtenidos de la prueba de susceptibilidad antibiótica a la combinación de drogas 3 Mix. La recolección de los datos se realizó de forma manual y visualmente. Para la medición de los halos se empleó una regla correctamente calibrada. Se verificó cada una de las fichas para evitar errores u omisiones en los datos que pudieran perjudicar la investigación.

IV. RESULTADOS

Para la presente investigación fueron seleccionadas ocho cepas bacterianas adquiridas de los laboratorios Microbiologics® de las cuales se trabajaron sólo con seis de ellas:

- Streptococcus mitis (ATCC® 6249)
- Lactobacillus acidophilus (ATCC® 4356),
- Actinomyces odontolyticus (ATCC® 25586)
- Porphyromona gingivalis (ATCC® 33277)
- Prevotella melaninogenica (ATCC® 25845)
- Peptostreptococcus anaerobius (ATCC® 27337)

Las bacterias fueron reactivadas en las instalaciones del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la UNMSM. Las cepas bacterianas Fusobacterium nucleatum (ATCC® 25586) y Veillonella parvula (ATCC® 10790) no pudieron ser reactivadas.

Se realizó la prueba de susceptibilidad en todas las cepas reactivadas pero para los fines estadísticos solo se consideraron 05 pues la cepa Porphyromona gingivalis no pudo ser analizada bajo los criterios de medición.

Las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM90) establecidas por el CLSI® que se emplearon para la preparación de las soluciones antibióticas tuvieron que ser reajustadas para adaptarse al método de trabajo establecido en la presente investigación.

CUADRO 1. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA COMBINACIÓN DE DROGAS 3MIX Y SUS COMPONENTES SOBRE STREPTOCOCCUS MITIS

Streptococcus mitis (24 horas)

Solución	Placa 1 (mm.)	Placa 2 (mm.)	Placa 3 (mm.)
Metronidazol	30	40	38
Ciprofloxacina	15	12	9
Minociclina	26	25	23
3 Mix	27	27	27
Control	6	6	6

Solución	Promedio	Mediana	Moda	DesvEst	Varianza
Metronidazol	36	38	-	5.29	28
Ciprofloxacina	12	12	-	3.00	9
Minociclina	24.67	25	-	1.53	2.33
3 Mix	27	27	27	0	0
Control	6	6	6	0	0

Cuadro 1. Se presenta la susceptibilidad a la combinación de drogas 3Mix y a cada uno de sus componentes sobre la bacteria anaerobia facultativa *Streptococcus mitis*. La solución de combinación de drogas 3Mix obtiene el segundo lugar en cuanto a promedios de halos de inhibición, precedido del Metronidazol. El valor de la desviación estándar fue mayor para la solución de metronidazol así como el valor de la varianza. Se realizó la prueba estadística Anova One – way con los cuatro grupos de soluciones antibióticas y el grupo control (Control negativo: Agua destilada) la cual dio como resultado $p < 0,05$ (estadísticamente significativo). Las pruebas T realizadas dieron como resultado: Metronidazol – 3Mix $p > 0,05$ (estadísticamente no significativo); Ciprofloxacina – 3Mix $p < 0,05$ (estadísticamente significativo); Minociclina – 3Mix $p > 0,05$ (estadísticamente no significativo) y no procesable para Control y 3Mix.

Los resultados a las 48 horas fueron los mismos por lo que no se consideraron en el presente análisis estadístico.

GRÁFICO 1. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA COMBINACIÓN DE DROGAS 3MIX Y SUS COMPONENTES SOBRE STREPTOCOCCUS MITIS

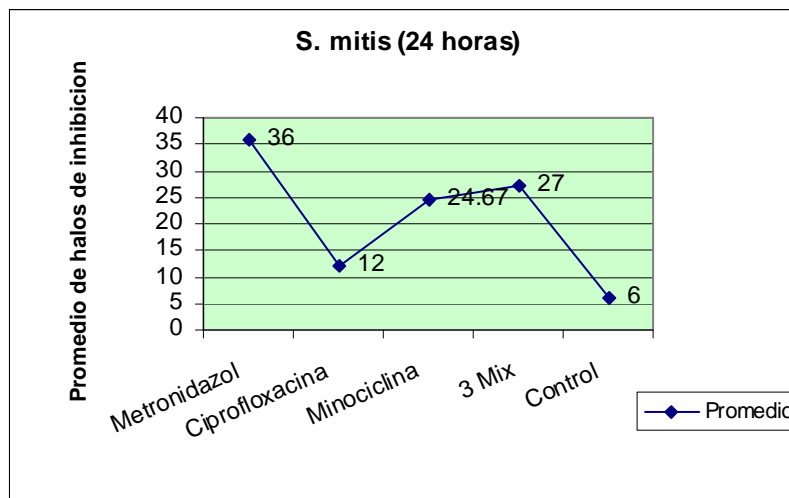


Gráfico 1. Ilustra la diferencia entre los promedios de halos de inhibición (mm.) observándose que la solución de Metronidazol tiene mejor efecto antibacteriano que la solución de combinación de drogas 3Mix, la cual obtiene el segundo lugar seguido de la solución de Minociclina y Ciprofloxacina respectivamente.

CUADRO 2. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA COMBINACIÓN DE DROGAS 3MIX Y SUS COMPONENTES SOBRE LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS (24 HORAS).

Lactobacillus acidophylus (24 horas)

Solución	Placa 1 (mm.)	Placa 2 (mm.)	Placa 3 (mm.)
Metronidazol	42	40	45
Ciprofloxacina	6	6	6
Minociclina	6	6	24
3 Mix	18	30	28
Control	6	6	6

Solución	Promedio	Mediana	Moda	DesvEst	Varianza
Metronidazol	42.33	42	-	2.52	6.33
Ciprofloxacina	6	6	6	0	0
Minociclina	12	6	6	10.39	108
3 Mix	25.33	28	-	6.43	41.33
Control	6	6	6	0	0

Cuadro 2. Presenta la actividad antibacteriana de la solución de combinación de drogas 3Mix y sus componentes sobre la bacteria anaerobia facultativa *Lactobacillus acidophylus* a las 24 horas de realizarse la prueba de susceptibilidad. Los promedios de inhibición mas altos están dados por la solución de Metronidazol y la solución de combinación de drogas 3Mix con 42.33 y 25.33 milímetros respectivamente. El mayor valor de la desviación estándar y de varianza lo obtuvo la solución de Minociclina con 10,39 y 108 respectivamente. Se realizo la prueba estadística Anova One – Way con los cuatro grupos de soluciones antibióticas incluyendo también el grupo control (control negativo: Agua destilada) obteniendo un valor $p < 0.05$ (estadísticamente significativo). Las pruebas T realizadas dieron los siguientes resultados: Metronidazol – 3Mix $p > 0.05$ (estadísticamente no significativo); Ciprofloxacina – 3Mix $p < 0.05$ (estadísticamente significativo); Minociclina – 3Mix $p > 0.05$ (estadísticamente no significativo) y Control – 3Mix $p < 0.05$ (estadísticamente significativo).

GRÁFICO 2. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA COMBINACIÓN DE DROGAS 3MIX Y SUS COMPONENTES SOBRE LACTOBACILLUS ACIDOPHYLUS (24 HORAS).

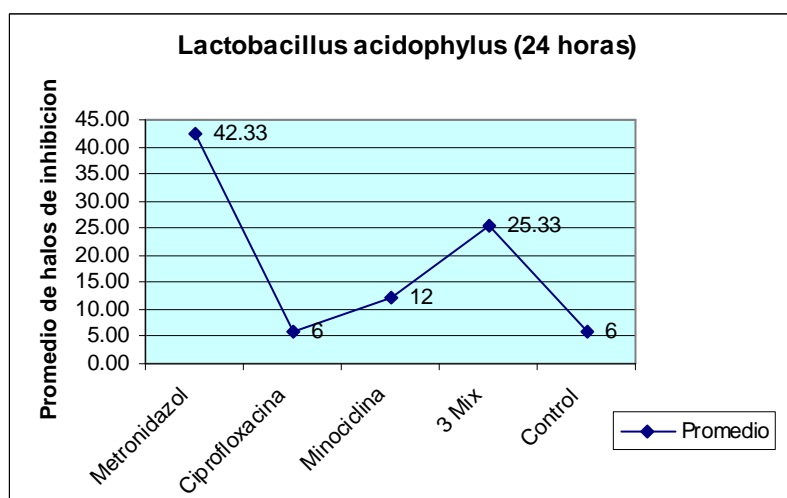


Gráfico 2. Ilustra la diferencia entre los promedios de halos de inhibición (mm.) observándose que la solución de Metronidazol tiene mejor efecto antibacteriano que la solución de combinación de drogas 3Mix la cual obtiene el segundo lugar seguido de la solución de Minociclina. La solución de Ciprofloxacina y el Control no muestran efecto alguno sobre la bacteria.

CUADRO 3. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA COMBINACIÓN DE DROGAS 3MIX Y SUS COMPONENTES SOBRE LACTOBACILLUS ACIDOPHYLUS (48 HORAS).

Lactobacillus acidophylus (48 horas)

Solución	Placa 1 (mm.)	Placa 2 (mm.)	Placa 3 (mm.)
Metronidazol	42	43	45
Ciprofloxacina	6	6	6
Minociclina	25	19	24
3 Mix	21	31	28
Control	6	6	6

Solución	Promedio	Mediana	Moda	DesvEst	Varianza
Metronidazol	43.33	43	-	1.53	2.33
Ciprofloxacina	6	6	6	0	0
Minociclina	22.67	24	-	3.21	10.33
3 Mix	26.67	28	-	5.13	26.33
Control	6	6	6	0	0

Cuadro 3. Presenta la actividad antibacteriana de la solución de combinación de drogas 3Mix y sus componentes sobre la bacteria anaerobia facultativa Lactobacillus acidophylus a las 48 horas de realizarse la prueba de susceptibilidad. Los promedios de inhibición mas altos están dados por la solución de Metronidazol y la solución de combinación de drogas 3Mix con 43.33 y 26.67 milímetros respectivamente. Los valores de la desviación estándar y varianza fueron mayores para la solución de combinación de drogas 3Mix con un valor de

5.13 y 26.33 respectivamente. Se realizó la prueba estadística Anova One – Way con los cuatro grupos de soluciones antibióticas e incluyendo el grupo control (Control negativo: Agua destilada) obteniendo un valor $p < 0.05$ (estadísticamente significativo). Las pruebas T realizadas dieron como resultado: Metronidazol – 3Mix $p < 0.05$ (estadísticamente significativo); Ciprofloxacina – 3Mix $p < 0.05$ (estadísticamente significativo); Minociclina – 3Mix $p > 0.05$ (estadísticamente no significativo) y Control – 3mix $p < 0.05$ (estadísticamente significativo)

GRÁFICO 3. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA COMBINACIÓN DE DROGAS 3MIX Y SUS COMPONENTES SOBRE LACTOBACILLUS ACIDOPHYLUS (48 HORAS).

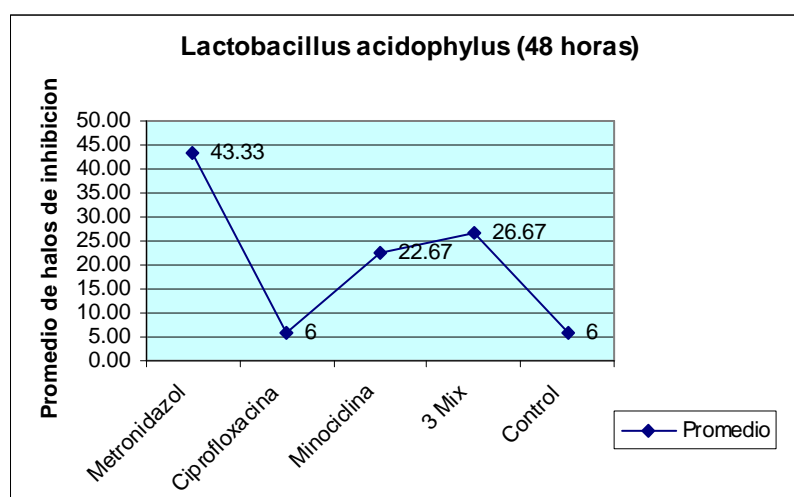


Gráfico 3. Muestra la diferencia entre los promedios de los halos de inhibición obtenidos a las 48 horas de haber realizado la prueba de susceptibilidad. Se observa del grafico que el valor mas alto es obtenido por la solución de Metronidazol, seguido de la solución de combinación de drogas 3Mix. Ciprofloxacina y Control no muestran ningún efecto antibacteriano contra esta bacteria.

CUADRO 4. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA COMBINACIÓN DE DROGAS 3MIX Y SUS COMPONENTES SOBRE ACTINOMYCES ODONTOLYTICUS (24 HORAS).

Actinomyces odontolyticus (24 horas)

Solución	Placa 1 (mm.)	Placa 2 (mm.)	Placa 3 (mm.)
Metronidazol	33	37	44
Ciprofloxacina	8	11	10
Minociclina	28	37	35
3 Mix	29	31	32
Control	6	6	6

Solución	Promedio	Mediana	Moda	DesvEst	Varianza
Metronidazol	38	37	-	5.57	31
Ciprofloxacina	9.67	10	-	1.53	2.33
Minociclina	33.33	35	-	4.73	22.33
3 Mix	30.67	31	-	1.53	2.33
Control	6	6	6	0	0

Cuadro 4. Presenta la actividad antibacteriana de la solución de combinación de drogas 3Mix y sus componentes sobre la bacteria anaerobia facultativa *Actinomyces odontolyticus* a las 24 horas de realizada la prueba de susceptibilidad. Los mayores promedios de diámetros de halos de inhibición están dados por la acción de la solución de Metronidazol (38 mm.) y la solución de Minociclina (33.33 mm.). La solución de Metronidazol también obtuvo el mayor valor de la desviación estándar y varianza. Se realizó la prueba estadística Anova One – Way considerando los cuatro grupos de soluciones antibióticas y la solución control (Control negativo: Agua destilada) obteniendo como resultado un valor $p < 0.05$ (estadísticamente significativo). Las pruebas T realizadas dieron los siguientes resultados: Metronidazol – 3Mix $p > 0.05$ (estadísticamente no significativo); Ciprofloxacina – 3Mix $p < 0.05$ (estadísticamente significativo); Minociclina – 3Mix $p > 0.05$ (estadísticamente no significativo) y Control – 3mix $p < 0.05$ (estadísticamente significativo).

GRÁFICO 4. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA COMBINACIÓN DE DROGAS 3MIX Y SUS COMPONENTES SOBRE ACTINOMYCES ODONTOLYTICUS (24 HORAS).

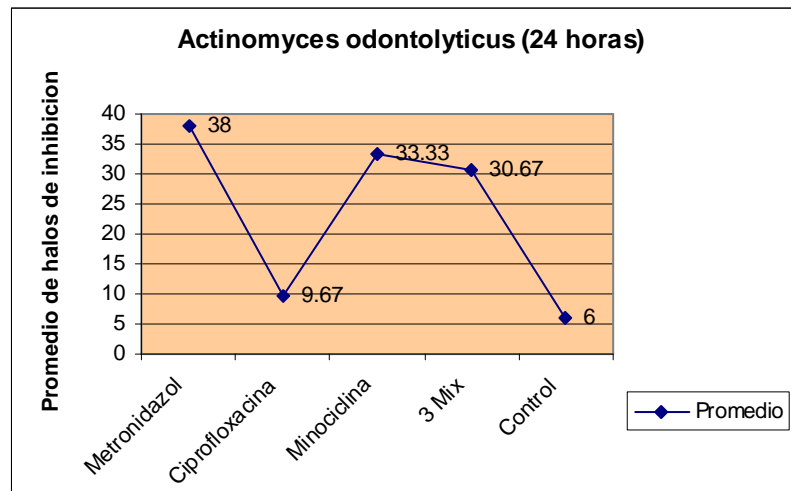


Gráfico 4. Muestra la diferencia entre los promedios de los diámetros de halos de inhibición obtenidos a las 24 horas de realizada la prueba de susceptibilidad. Se observa del grafico que el valor más alto es obtenido por la solución de Metronidazol, seguido de la solución de Minociclina. La solución de combinación de drogas 3Mix ocupa el tercer lugar.

CUADRO 5. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA COMBINACIÓN DE DROGAS 3MIX Y SUS COMPONENTES SOBRE ACTINOMYCES ODONTOLYTICUS (48 HORAS).

Actinomyces odontolyticus (48 horas)

Solución	Placa 1 (mm.)	Placa 2 (mm.)	Placa 3 (mm.)
Metronidazol	33	33	44
Ciprofloxacina	8	6	6
Minociclina	24	25	35
3 Mix	22	22	25
Control	6	6	6

Solución	Promedio	Mediana	Moda	DesvEst	Varianza
Metronidazol	36.67	33	33	6.35	40.33
Ciprofloxacina	6.67	6	6	1.15	1.33
Minociclina	28	25	-	6.08	37
3 Mix	23	22	22	1.73	3
Control	6	6	6	0	0

Cuadro 5. Presenta la actividad antibacteriana de la solución de combinación de drogas 3Mix y sus componentes sobre la bacteria anaerobia facultativa *Actinomyces odontolyticus* a las 48 horas de haberse realizado la prueba de susceptibilidad. Los mayores promedios de halos de inhibición están dados por la acción de las soluciones de Metronidazol (36.67 mm.) y Minociclina (28 mm.). La solución de Metronidazol obtuvo el mayor valor de la desviación estándar y varianza. Se realizó la prueba estadística Anova One – Way considerando al grupo control (Control negativo: Agua destilada) junto a los cuatro grupos de soluciones antibióticas obteniendo como resultado un valor $p < 0.05$ (estadísticamente significativo). Las pruebas T realizadas dieron los siguientes resultados: Metronidazol – 3Mix $p < 0.05$ (estadísticamente significativa); Ciprofloxacina – 3Mix $p < 0.05$ (estadísticamente significativa); Minociclina – 3Mix $p > 0.05$ (estadísticamente no significativa) y Control – 3Mix $p < 0.05$ (estadísticamente significativo).

GRÁFICO 5. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA COMBINACIÓN DE DROGAS 3MIX Y SUS COMPONENTES SOBRE ACTINOMYCES ODONTOLYTICUS (48 HORAS).

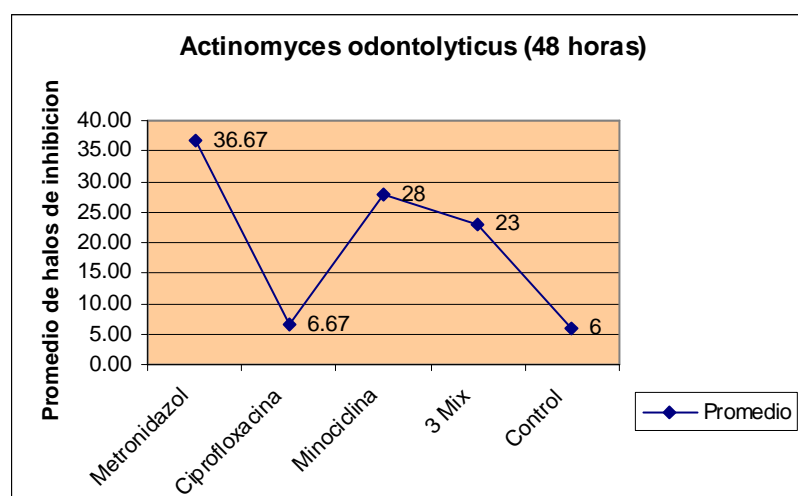


Gráfico 5. Ilustra los promedios de los halos de inhibición obtenidos a las 48 horas de haberse realizado la prueba de susceptibilidad. Se observa del grafico que el valor mayor es obtenido por la solución de Metronidazol, seguido de la solución de Minociclina.

CUADRO 6. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA COMBINACIÓN DE DROGAS 3MIX Y SUS COMPONENTES SOBRE PORPHYROMONA GINGIVALIS (48 HORAS).

Porphyromona gingivalis (48 horas)

Solución	Placa 1	Placa 2	Placa 3
Metronidazol	nr	Nr	nr
Ciprofloxacina	20	Nr	18
Minociclina	nr	Nr	nr
3 Mix	nr	Nr	nr
Control	6	6	6

nr= no registrable

Solución	Promedio	Mediana	Moda	DesvEst	Varianza
Metronidazol	-	-	-	-	-
Ciprofloxacina	19	-	-	-	-
Minociclina	-	-	-	-	-
3 Mix	-	-	-	-	-
Control	6	6	6	0	0

Cuadro 6. Presenta la actividad antibacteriana de la solución de combinación de drogas 3Mix y sus componentes sobre la bacteria anaerobia estricta Porphyromona gingivalis a las 48 horas de realizada la prueba de susceptibilidad. No se pudieron registrar en su totalidad los halos de inhibición debido a que estos confluyeron entre si e inhibieron casi la totalidad de crecimiento bacteriano. Los diámetros de la solución de Ciprofloxacina pudieron medirse debido a que esta solución mostró menos efecto antibacteriano y favoreció el crecimiento bacteriano. Las pruebas Anova One – Way y T – Student, así como las medidas de tendencia central no pudieron realizarse debido a la ausencia de datos.

GRÁFICO 6. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA COMBINACIÓN DE DROGAS 3MIX Y SUS COMPONENTES SOBRE PORPHYROMONA GINGIVALIS (48 HORAS).

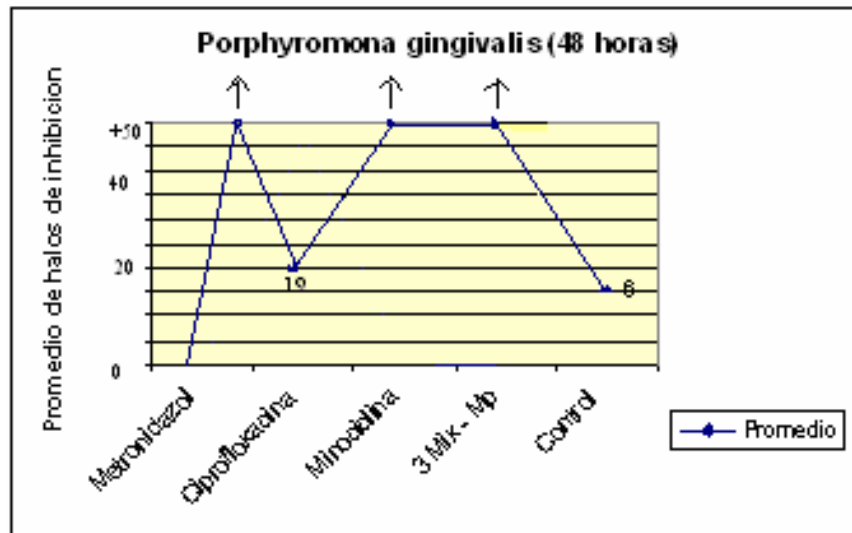


Gráfico 6. Ilustra los promedios de los diámetros de halos de inhibición de los dos únicos valores con menor efecto antibacteriano (Solución de Ciprofloxacina y Control). Los halos de las demás soluciones confluyeron debido a la potencia de éstas sobre la bacteria (sobrepasando los 25 mm).

CUADRO 7. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA COMBINACIÓN DE DROGAS 3MIX Y SUS COMPONENTES SOBRE PREVOTELLA MELANINOGENICA (48 HORAS).

Prevotella melaninogenica (48 horas)

Solución	Placa 1 (mm.)	Placa 2 (mm.)	Placa 3 (mm.)
Metronidazol	25	44	25
Ciprofloxacina	9	6	14
Minociclina	37	34	42
3 Mix	38	40	40
Control	6	6	6

Solución	Promedio	Mediana	Moda	DesvEst	Varianza
Metronidazol	31.33	25	25	10.97	120.33
Ciprofloxacina	9.67	9	-	4.04	16.33
Minociclina	37.67	37	-	4.04	16.33
3 Mix	39.33	40	40	1.15	1.33
Control	6	6	6	0	0

Cuadro 7. Presenta la actividad antibacteriana de la solución de combinación de drogas 3Mix y sus componentes sobre la bacteria anaerobia estricta *Prevotella melaninogénica* a las 48 horas de realizada la prueba de susceptibilidad. Los mayores promedios de diámetros de halos de inhibición están dados por la solución de combinación de drogas 3Mix (39.33 mm.) y Minociclina (37.67 mm.). La solución de Metronidazol obtuvo el mayor valor de la desviación estándar (10.97) y varianza (120.33). Se realizó la prueba estadística Anova One – Way considerando los cuatro grupos de soluciones antibióticas y la solución control (Control negativo: Agua destilada) obteniendo como resultado un valor $p < 0.05$ (estadísticamente significativo). Las pruebas T realizadas dieron los siguientes resultados: Metronidazol – 3Mix $p > 0.05$ (estadísticamente no significativo); Ciprofloxacina – 3Mix $p < 0.05$ (estadísticamente significativo); Minociclina – 3Mix $p > 0.05$ (estadísticamente no significativo) y Control – 3Mix $p < 0.05$ (estadísticamente significativo).

GRÁFICO 7. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA COMBINACIÓN DE DROGAS 3MIX Y SUS COMPONENTES SOBRE PREVOTELLA MELANINOGENICA (48 HORAS).

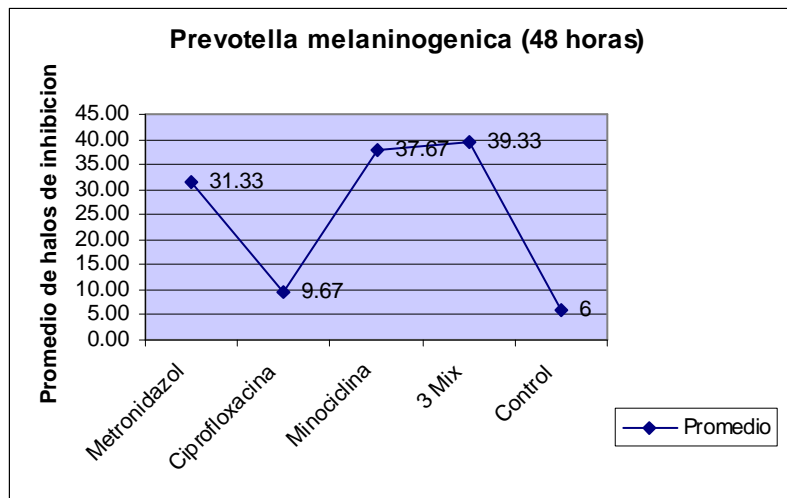


Gráfico 7. Ilustra los promedios de los diámetros de halos de inhibición obtenidos luego de 48 horas de realizada la prueba de susceptibilidad. El mayor promedio lo obtiene la solución de combinación de drogas 3Mix seguida por la solución de Minociclina.

CUADRO 8. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA COMBINACIÓN DE DROGAS 3MIX Y SUS COMPONENTES SOBRE PEPTOSTREPTOCOCCUS ANAEROBIUS (24 HORAS).

Peptostreptococcus anaerobius (24 horas)

Solución	Placa 1	Placa 2	Placa 3
Metronidazol	35	33	32
Ciprofloxacin	24	22	24
Minociclina	29	27	29
3 Mix	25	26	25
Control	6	6	6

Solución	Promedio	Mediana	Moda	DesvEst	Varianza
Metronidazol	33.33	33	-	1.53	2.33
Ciprofloxacin	23.33	24	24	1.15	1.33
Minociclina	28.33	29	29	1.15	1.33
3 Mix	25.33	25	25	0.58	0.33
Control	6	6	6	0	0

Cuadro 8. Presenta la actividad antibacteriana de la solución de combinación de drogas 3Mix y sus componentes sobre la bacteria anaerobia estricta *Peptostreptococcus anaerobius* a las 24 horas de realizada la prueba de susceptibilidad. Los mayores promedios de diámetros de halos de inhibición están dados por la solución de Metronidazol (33.33 mm.) y la solución de Minociclina (28.33 mm.). La solución de Metronidazol obtuvo el mayor valor de la desviación estándar (1.53) y varianza (2.33). Se realizó la prueba estadística Anova One – Way considerando los cuatro grupos de soluciones antibióticas y la solución control (Control negativo: Agua destilada) obteniendo como resultado un valor $p < 0.05$ (estadísticamente significativo). Las pruebas T realizadas dieron los siguientes resultados: Metronidazol – 3Mix $p < 0.05$; Ciprofloxacina – 3Mix $p > 0.05$ (estadísticamente no significativo); Minociclina - 3mix $p > 0.05$ (estadísticamente no significativo) y Control - 3Mix $p < 0.05$ (estadísticamente significativo).

GRÁFICO 8. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA COMBINACIÓN DE DROGAS 3MIX Y SUS COMPONENTES SOBRE PEPTOSTREPTOCOCCUS ANAEROBIUS (24 HORAS).

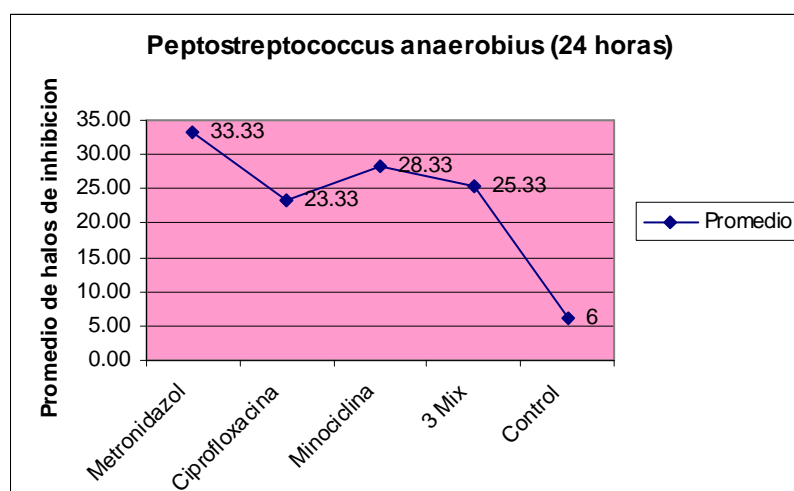


Gráfico 8. El gráfico ilustra los promedios de los diámetros de halos de inhibición dados por las diferentes soluciones luego de la prueba de susceptibilidad a las 24 horas. El mayor promedio lo obtiene la solución de Metronidazol seguido de la solución de Minociclina en tanto que la solución control demuestra un efecto inhibitorio nulo sobre la bacteria.

CUADRO 9. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA COMBINACIÓN DE DROGAS 3MIX Y SUS COMPONENTES SOBRE PEPTOSTREPTOCOCCUS ANAEROBIUS (48 HORAS).

Peptostreptococcus anaerobius (48 horas)

Solución	Placa 1	Placa 2	Placa 3
Metronidazol	30	30	23
Ciprofloxacina	25	23	22
Minociclina	29	27	26
3 Mix	30	26	26
Control	6	6	6

Solución	Promedio	Mediana	Moda	DesvEst	Varianza
Metronidazol	27.67	30	30	4.04	16.33
Ciprofloxacina	23.33	23	-	1.53	2.33
Minociclina	27.33	27	-	1.53	2.33
3 Mix	27.33	26	26	2.31	5.33
Control	6	6	6	0	0

Cuadro 9. Presenta la actividad antibacteriana de la solución de combinación de drogas 3Mix y sus componentes sobre la bacteria anaerobia estricta *Peptostreptococcus anaerobius* a las 48 horas de realizada la prueba de susceptibilidad. Los mayores promedios de los diámetros de halos de inhibición están dados por la acción de la solución de Metronidazol (27.67 mm.) y las soluciones de combinación de drogas 3Mix y Minociclina; estas ultimas con los mismos valores (27.33 mm.). La solución de Metronidazol obtuvo el mayor valor de la desviación estándar (4.04) y varianza (16.33). Se realizó la prueba

estadística Anova One – Way considerando los cuatro grupos de soluciones antibióticas y el grupo control (Control negativo: Agua destilada) obteniendo como resultado un valor $p < 0.05$ (estadísticamente significativo). La prueba T dio como resultados: Metronidazol – 3Mix $p > 0.05$ (estadísticamente no significativa); Ciprofloxacina – 3Mix $p > 0.05$ (estadísticamente significativa); Minociclina – 3Mix $p > 0.05$ (estadísticamente no significativa) y Control – 3 Mix $p < 0.05$ (estadísticamente significativa).

GRÁFICO 9. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA COMBINACIÓN DE DROGAS 3MIX Y SUS COMPONENTES SOBRE PEPTOSTREPTOCOCCUS ANAEROBIUS (48 HORAS).

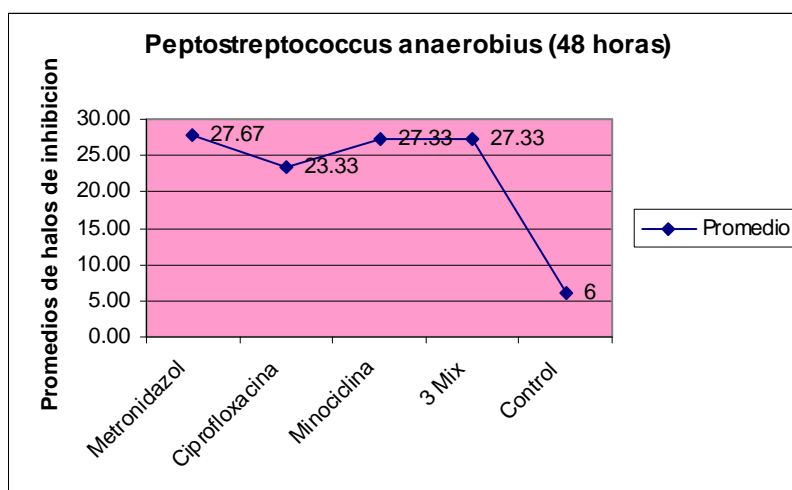


Gráfico 9. Se ilustran los promedios de los halos de inhibición obtenidos luego de la prueba de susceptibilidad a las 48 horas. Las soluciones de combinación de drogas 3Mix y Minociclina tienen los mismos promedios de diámetros de halos de inhibición, precedidos por la solución de Metronidazol.

CUADRO 10. PROMEDIO DE DIÁMETROS DE HALO DE INHIBICIÓN POR ESPECIES BACTERIANAS (mm.)

Solución	S.mitis (24h)	A.odont (24h)	A.odont (48h)	L.acid (24h)	L. acid (48h)	P.melan (48h)	P.ging (48h)	P.anae (24h)	P.anae (48h)
Metronidazol	36	38	36.67	42.33	43.33	31.33	-	33.33	27.67
Ciprofloxacina	12	9.67	6.67	6	6	9.67	19	23.33	23.33
Minociclina	24.67	33.33	28	12	22.67	37.67	-	28.33	27.33
3 Mix	27	30.67	23	25.33	26.67	39.33	-	25.33	27.33
Control	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Cuadro 10. Se presenta el consolidado de los promedios de diámetros de halos de inhibición (en milímetros) por cada especie bacteriana y tiempo de lectura de resultados (24 – 48 horas). La solución de Metronidazol fue mas efectiva en la bacteria *Lactobacillus acidophylus* especialmente a las 48 horas (**Gráfico 11**). La solución de Ciprofloxacina tuvo mayor efecto inhibitorio sobre la bacteria *Peptostreptococcus anaerobius*, teniendo los mismos valores a las 24 horas como a las 48 horas (**Gráfico 12**). La solución de Minociclina tuvo mayor efectividad sobre la bacteria *Prevotella melaninogenica* a las 48 horas y en segundo lugar sobre *Actinomyces odontolyticus* a las 24 horas (**Gráfico 13**). La combinación de drogas 3Mix tuvo mayor efecto inhibitorio sobre la bacteria *Prevotella melaninogenica* a las 48 horas y en segundo lugar sobre *Actinomyces odontolyticus* a las 24 horas (**Gráfico 14**). Por último, la solución control no tuvo ningún efecto inhibitorio sobre las bacterias empleadas en este estudio.

GRAFICO 10. PROMEDIO DE DIÁMETROS DE HALO DE INHIBICION POR BACTERIA (mm.)

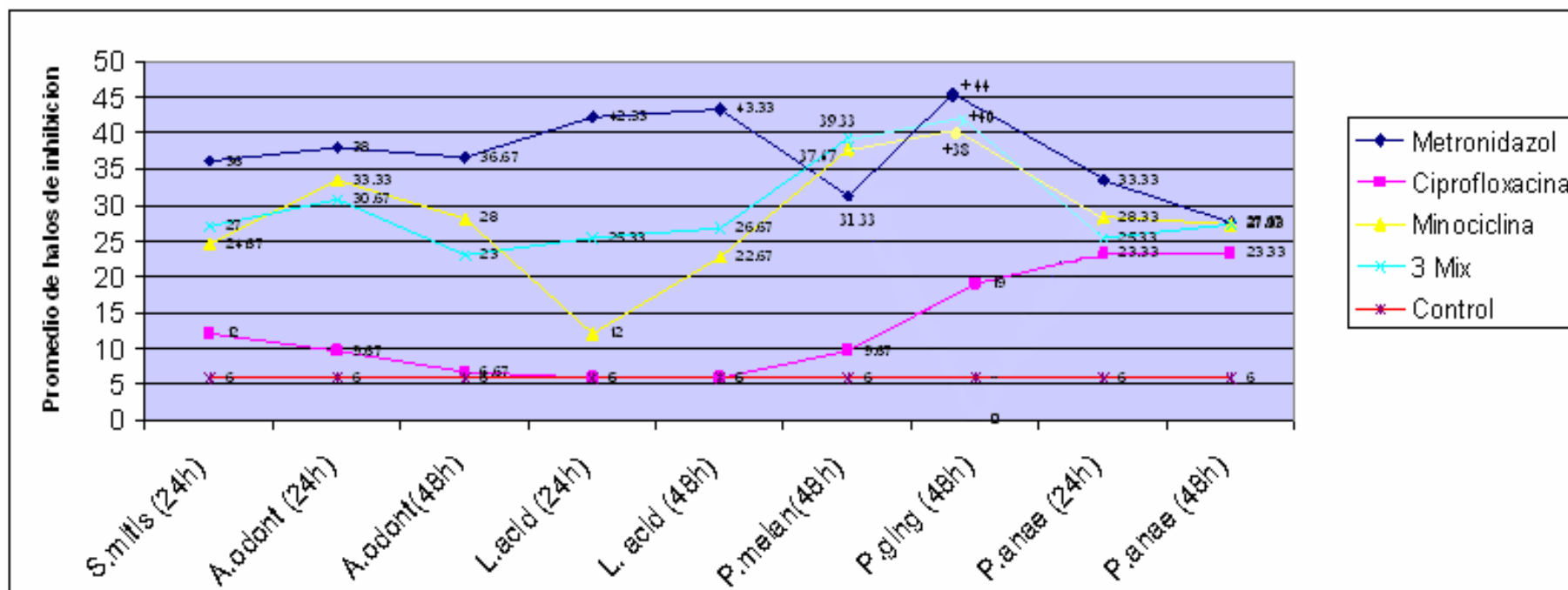


Gráfico Nº 10. Ilustra el consolidado de los promedios de halos de inhibición por cada bacteria y de acuerdo al tiempo de realizarse la lectura de datos. Los mayores promedios están dados por la solución de Metronidazol, seguido por la solución de combinación de drogas antibacterianas 3Mix. Debido a la superposición de halos de inhibición y su alta susceptibilidad, se presentan en el gráfico resultados aproximados para la bacteria Porphyromona gingivalis.

GRÁFICO 11. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA SOLUCIÓN DE METRONIDAZOL

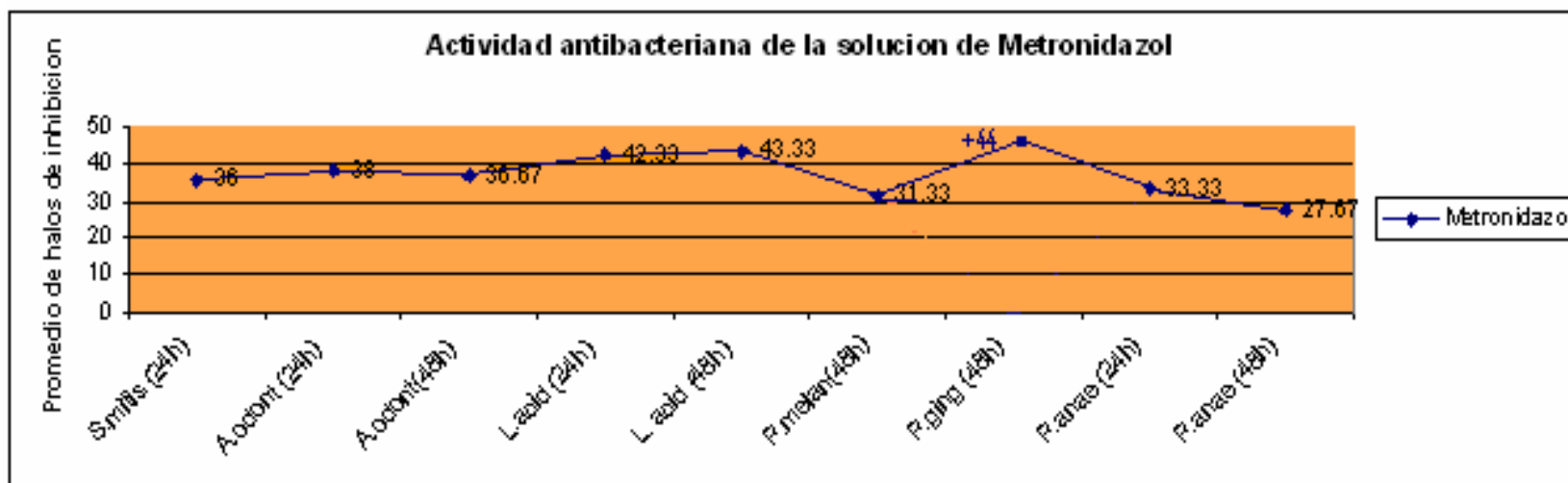


Gráfico Nº 11. Ilustra los promedios de halos de inhibición obtenidos luego de realizar la prueba de susceptibilidad a la solución de Metronidazol en cada una de las seis bacterias empleadas en el estudio. Se observa del grafico que la bacteria *Porphyromona gingivalis* es la que presenta mayor susceptibilidad al Metronidazol, seguida por *Lactobacillus acidophylus* a las 48 y 24 horas respectivamente. La segunda bacteria más susceptible es el *Actinomyces odontolyticus* a las 24 horas mientras que el menor efecto antibacteriano se observa en *Peptostreptococcus anaerobius* a las 48 horas de haberse realizado la prueba.

GRÁFICO Nº 12: ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA SOLUCIÓN DE CIPROFLOXACINA

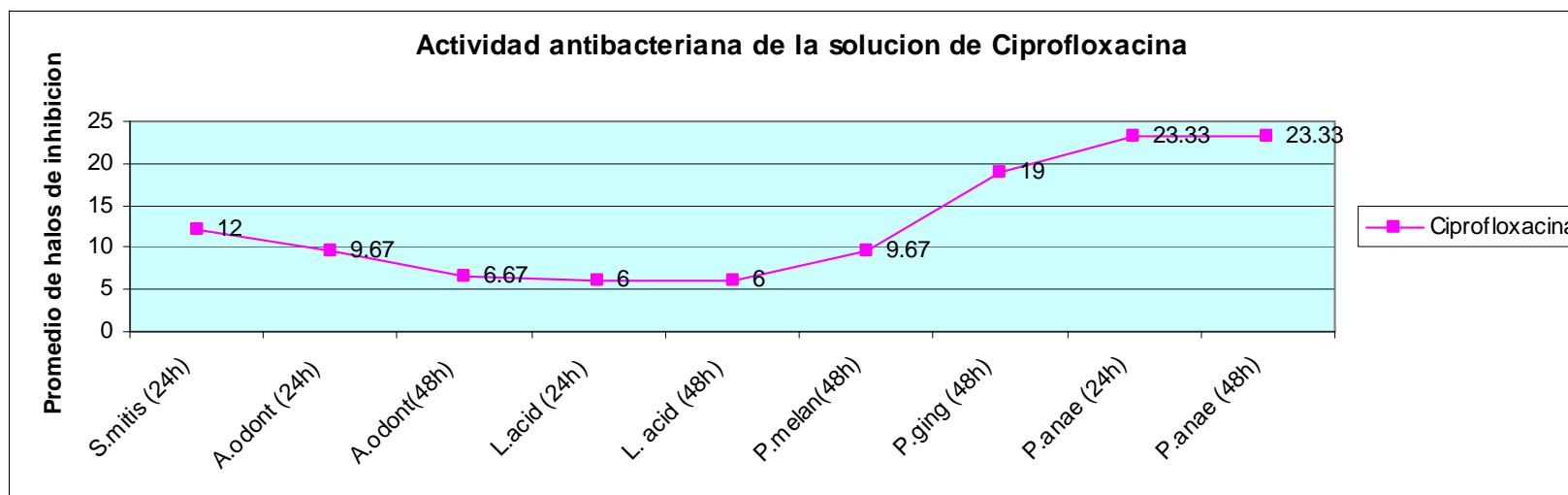


Gráfico Nº 12. Ilustra los promedios de halos de inhibición obtenidos luego de realizar la prueba de susceptibilidad a la solución de Ciprofloxacina en cada una de las seis bacterias empleadas en el estudio. Se observa del gráfico que la bacteria *Peptostreptococcus anaerobius* tuvo el mayor promedio de halos de inhibición con los mismos valores a las 24 y 48 horas, demostrando su alta susceptibilidad a la solución. La segunda bacteria más susceptible fue *Porphyromona gingivalis* (48 horas), El menor efecto antibacteriano se observa en la bacteria *Lactobacillus acidophylus* (24 y 48 horas), donde no se obtuvo ningún halo de inhibición.

GRÁFICO Nº 13: ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA SOLUCIÓN DE MINOCICLINA

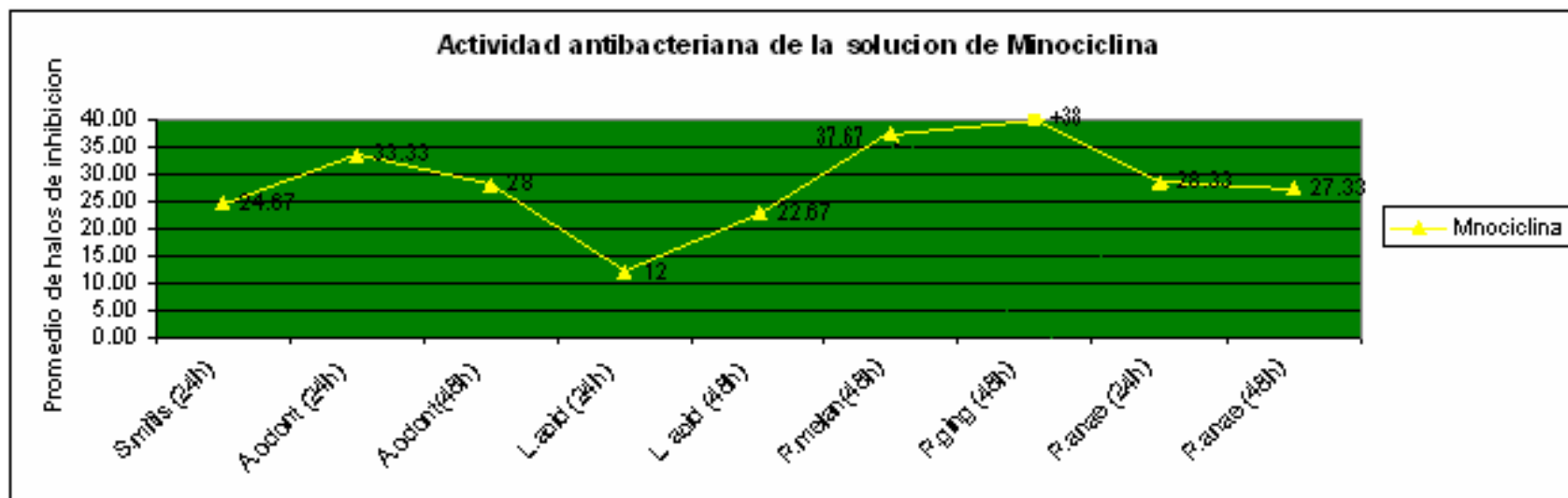


Gráfico Nº 13. Ilustra los promedios de halos de inhibición obtenidos luego de realizar la prueba de susceptibilidad a la solución de Minociclina en cada una de las seis bacterias empleadas en el estudio. Se observa en el gráfico que la bacteria *Porphyromona gingivalis* fue la que presentó mayor susceptibilidad a la Minociclina, seguida por *Prevotella melaninogenica* (48 horas). La tercera bacteria más susceptible fue el *Actinomyces odontolyticus* a las 24 horas mientras que el menor efecto antibacteriano se observó en *Lactobacillus acidophilus* a las 24 horas de haberse realizado la prueba.

GRÁFICO Nº 14: ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA SOLUCIÓN DE COMBINACION DE DROGAS 3MIX

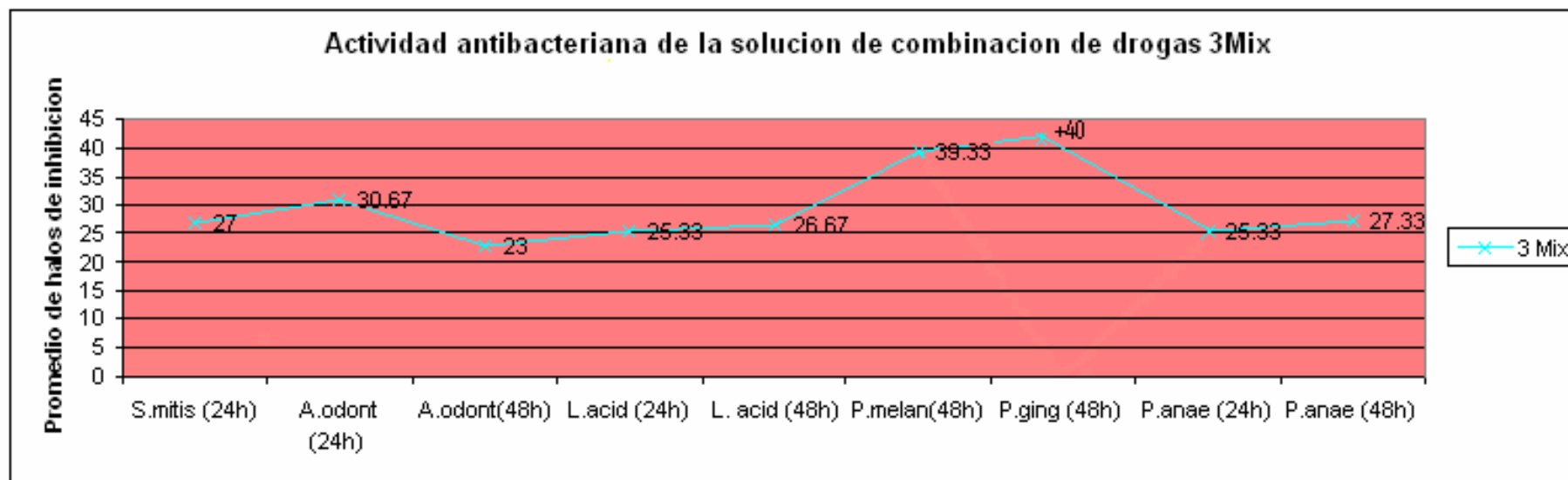


Gráfico Nº 14. Ilustra los promedios de halos de inhibición obtenidos luego de realizar la prueba de susceptibilidad a la solución de combinación de drogas 3 Mix en cada una de las seis bacterias empleadas en el estudio. Se observa del gráfico que la bacteria *Porphyromona gingivalis* fue la que presentó mayor susceptibilidad. La segunda bacteria más susceptible fue *Prevotella melaninogénica* (48 horas) seguida por *Actinomyces odontolyticus* a las 24 horas mientras que el menor efecto antibacteriano se observó en *Actinomyces odontolyticus* a las 48 horas de haberse realizado la prueba.

CUADRO 11. PROMEDIO DE ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA SEGÚN TIPO DE BACTERIA

Solución	Tipo de bacteria	
	Anae. Fac.	Anae. Estric.
Metronidazol	39.27	30.77
Ciprofloxacina	8.07	18.83
Minociclina	24.13	31.11
3Mix	26.53	30.66

Cuadro 11. Presenta los promedios de diámetros de halos de inhibición agrupadas según tipo de bacteria: anaerobias estrictas o facultativas. Se observa en la tabla que la solución de Metronidazol fue más efectiva en las bacterias anaerobias estrictas que en las facultativas. La solución de combinación de drogas 3Mix fue más efectiva en bacterias anaerobias estrictas que en facultativas y más efectiva que la solución de Minociclina en bacterias anaerobias facultativas. La solución de Minociclina fue más efectiva en bacterias anaerobias estrictas y su actividad antibacteriana fue mucho mayor que la presentada por la solución de Metronidazol en bacterias anaerobias estrictas. Finalmente se observa la poca actividad antibacteriana de la solución de Ciprofloxacina a diferencia de las otras tres soluciones, sin embargo, cabe resaltar que su actividad antibacteriana fue mucho mayor contra anaerobios estrictos que facultativos como se aprecia en la tabla. Los datos de *Porphyromona gingivalis* respecto a las soluciones de Metronidazol, Minociclina y Combinación de Drogas 3 Mix no fueron considerados para determinar el promedio de actividad antibacteriana para anaerobias estrictas debido a la ausencia de datos exactos causados por la superposición de sus halos de inhibición.

GRÁFICO 15. PROMEDIOS DE ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA SEGÚN TIPO DE BACTERIA

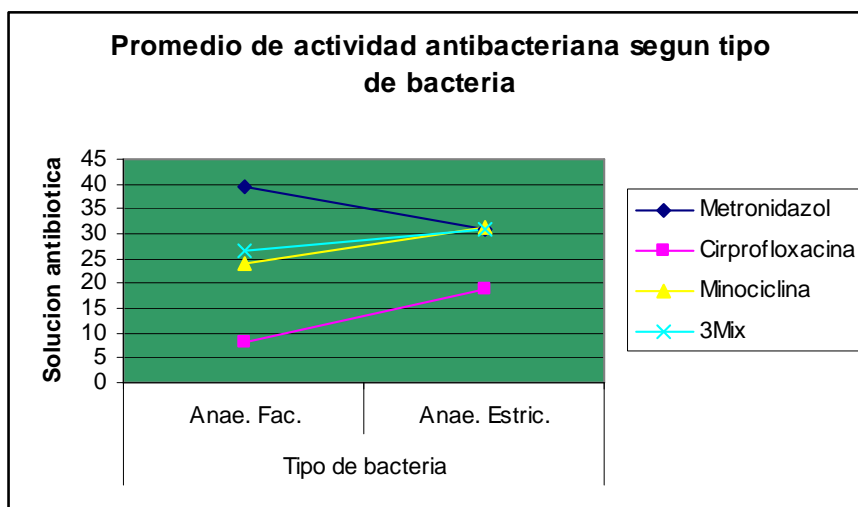


Gráfico 15. Ilustra los promedios de los diámetros de halos de inhibición formados por la acción de cada solución antibiótica por grupos de bacterias: Anaerobias estrictas y facultativas. La mayor actividad antibacteriana esta dada por la solución de Metronidazol, tanto en Anaerobias facultativas como estrictas, mientras que la menor actividad antibacteriana se observa con la solución de Ciprofloxacina. La solución de combinación de drogas 3 Mix logra el segundo lugar en cuanto a actividad antibacteriana, siendo más efectiva en bacterias anaerobias estrictas que en facultativas.

V. DISCUSION

Los conductos radiculares en una necrosis pulpar son de naturaleza polimicrobiana y con un alto predominio de anaerobios estrictos sobre anaerobios facultativos. Investigaciones actuales realizadas por Muñante²⁰(2005), Ercan⁷⁵ (2006) y Navia²¹ (2005) nos han dado a conocer los géneros y especies bacterianas más prevalentes en dientes permanentes con pulpas necróticas tanto en nuestro medio como en el exterior. Sin embargo, y a pesar que la literatura indica la similitud de especies y géneros bacterianos, son pocas las investigaciones sobre identificación y aislamiento de microorganismos prevalentes en conductos radiculares necróticos de piezas deciduas.

En la presente investigación se trabajó con los géneros Streptococcus, Lactobacillus, Actinomyces, Peptostreptococcus, Prevotella y Porphyromona como los representativos de la microbiota de un diente deciduo necrótico. Silva y Nelson²² (2006) encontraron que un 30% de los microorganismos anaerobios presentes en conductos radiculares necróticos de piezas deciduas eran bacilos negro pigmentados (BPN), representados principalmente por los géneros Prevotella y Porphyromona. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Cunha¹⁹ (2003) y Sato⁵⁹ (1993) quienes encuentran estos microorganismos en un 35%. En una investigación realizada en 1988, Toyoshima⁷⁹ encontró un 44% de estos microorganismos en conductos radiculares necróticos de dientes deciduos con re-tratamientos. Faria G.⁸¹ (2001) encontró que el género Streptococcus también está presente en un 85% en conductos radiculares de piezas deciduas

necróticas, resultado similar al obtenido por Cunha¹⁹ (96.7%) y Silva²² (85%) en los años 2003 y 2006 respectivamente.

Para la prueba de susceptibilidad a la combinación de Drogas 3mix se empleó el método de Disco – Difusión de Kirby – Bauer, a diferencia de las investigaciones previas de Sato^{2,4} y Hoshino^{5,10} quienes emplearon el método de Dilución en Agar. Se decidió emplear el método de Disco difusión con el objetivo de comparar cuantitativamente la actividad antibacteriana de la combinación de drogas 3Mix y sus componentes. Tachau³ (1995) uso el método de difusión en agar (Antibiograma) para comparar la efectividad de 10 materiales de obturación usados en los tratamientos de pulpectomía. En nuestro país, Gálvez y Mendoza⁶⁴ (2001) utilizaron este mismo método para probar la capacidad bactericida de pastas experimentales en bacterias anaerobias estrictas y facultativas. Previa a la presente investigación no se habían realizado trabajos evaluando la actividad antibacteriana de la combinación de drogas 3Mix y sus componentes mediante el método de Difusión en Agar.

Sato^{2,4} y Hoshino^{5,10} en sus investigaciones sobre el tema (1993, 1996, 2005) observaron la eficacia bactericida de la combinación de drogas 3Mix contra los microorganismos presentes en conductos radiculares infectados. En nuestro estudio se confirma su efectividad bactericida observándose amplios halos de inhibición en anaerobios estrictos y facultativos, siendo ligeramente más eficaz en anaerobios estrictos. Sin embargo la solución de Metronidazol mostró la mayor actividad antibacteriana en las seis bacterias estudiadas en nuestra investigación, en contradicción con los resultados de Castelli⁸² (1997) y Lana⁷² (2001) quienes hallaron baja respuesta al metronidazol en bacterias anaerobias facultativas.

Con respecto a *Streptococcus mitis*, en nuestro estudio se pudo observar la alta susceptibilidad a la solución de metronidazol y a la combinación de drogas 3Mix. Con respecto a las dos soluciones anteriores, la solución de Minociclina fue menos efectiva con lo que se corrobora el estudio de Bancescu⁸³ (2004) que encontró Concentraciones Inhibitorias Mínimas bastante altas para tetraciclinas sobre esta bacteria. No se han realizado estudios sobre la susceptibilidad de las Quinolonas en *Streptococcus* pero de acuerdo a nuestros resultados, se puede inferir su escasa actividad antibacteriana sobre microorganismos anaerobios facultativos y aerotolerantes.

La bacteria *Lactobacillus acidophylus* mostró baja resistencia a la combinación de drogas 3Mix. A diferencia de los trabajos realizados por Chou YK.⁸⁴ (2003), Hillier⁸⁵ (1999) y Bayer⁸⁶ (1978) en nuestro estudio, la solución de Metronidazol fue la que mostró la mayor actividad antibacteriana a las 24 y 48 horas.

A las 48 horas la combinación de drogas 3 Mix tuvo un ligero incremento en el diámetro de sus halos de inhibición, de igual manera con la solución de minocilina.

No existen estudios que demuestren la susceptibilidad del genero *Lactobacillus* a Ciprofloxacina y Minociclina; Hillier⁸⁵ (1999) encuentra que algunas cepas de *Lactobacillus* son susceptibles a las Quinolonas, grupo de fármacos donde pertenece la Ciprofloxacina. En nuestro estudio vemos una actividad antibacteriana nula a este antibiótico a las 24 y 48 horas. Delgado⁸⁷ (2005) encontró que el 22% de las especies de *Lactobacillus* aislados de tractos gastrointestinales eran resistentes a Tetraciclinas (familia principal de la Minocilina). En nuestra

investigación se observó, por el contrario, alta susceptibilidad a Minociclina a las 48 horas de realizada la prueba.

De todas las bacterias anaerobias facultativas *Actinomyces odontolitycus* fue la menos susceptible a la combinación de drogas 3Mix. La solución de Metronidazol mostró mayor actividad antibacteriana a las 24 y 48 horas de realizada la prueba, a diferencia de los resultados obtenidos en las investigaciones de Lana⁷² (2001) y LeCorn⁸⁸ (2004) quienes probaron la susceptibilidad de algunas especies orales de *Actinomyces* al metronidazol. Sin embargo, todas las soluciones disminuyeron su actividad antibacteriana (medida por sus halos de inhibición) a las 48 horas.

La solución de Minociclina fue la segunda solución con mejor efecto antibacteriano. No se registran estudios anteriores de este antibiótico sobre *Actinomyces odontolitycus*. En su estudio del 2005, Smith⁸⁹ encontró baja actividad antibacteriana de las Tetraciclinas contra este género, a diferencia de LeCorn⁸⁸ (2004) quien encontró sensibilidad a Doxíciclina (familia de la Minociclina) en varias especies de *Actinomyces* orales.

La mayor resistencia se observó con la solución de Ciprofloxacina. Los resultados obtenidos en nuestro estudio se asemejan a los de Smith⁸⁹ (2005), quien encuentra baja actividad antibacteriana sobre algunas especies no orales de *Actinomyces*.

Porphyromona gingivalis es la bacteria anaerobia más prevalente en necrosis pulpar y lesiones periapicales. Los resultados de la prueba de susceptibilidad a la combinación de drogas 3 Mix y sus componentes no pudieron ser evaluados mediante la medición de sus halos inhibitorios ya que se demostró una alta

sensibilidad a las soluciones antibióticas inhibiendo la casi totalidad del crecimiento bacteriano. Los estudios realizados por Jacinto⁶⁹ (2003) y Litterio⁷¹ (2004) confirman estos resultados para la solución de Metronidazol; sin embargo, Bresco⁷⁴ (2006) encuentra un 67% de resistencia al metronidazol en las cepas de *Porphyromonas gingivalis* aislados de infecciones Odontogénicas. En esa misma investigación también encontró alta sensibilidad a las Tetraciclinas (67%).

En nuestra investigación se pudo observar algunas colonias del lado del disco de Ciprofloxacina, con los que demostraría la baja actividad antibacteriana de este antibiótico a comparación de las otras tres soluciones antibacterianas.

Prevotella melaninogenica, otro de los bacilos negros pigmentados (BPB) prevalente en necrosis pulpar mostró la mayor susceptibilidad a la combinación de drogas 3Mix de todas las bacterias estudiadas en la presente investigación. La solución de Minociclina quedó en segundo lugar en cuanto a actividad antibacteriana. *Prevotella melaninogenica* fue la única bacteria del estudio que no fue altamente susceptible a Metronidazol, aunque los halos de inhibición mostrados a las 48 horas fueron bastante amplios (>30 mm.). Este resultado concuerda con la investigación de Maestre⁹⁰ (2007) quien encuentra menos del 6% de resistencia a metronidazol en varias cepas de *Prevotella* entre ellas *Prevotella Melaninogenica*. Estudios previos de Lana⁷² (2001) y Litterio⁷¹ (2004) corroboran estos resultados en cepas de *Prevotellas* orales y no orales. Sin embargo, en los estudios de Jacinto⁶⁹ (2003) y Bresco⁷⁴ (2006) se ha observado que para *Prevotella intermedia* (otra de las especies de *prevotellas* orales) ha aumentado la resistencia al Metronidazol.

No se han realizado estudios sobre la susceptibilidad de *Prevotella melaninogenica* a las Tetraciclinas o Quinolonas. Lana⁷² (2001) demuestra que las Tetraciclinas alcanzan cerca del 90% de susceptibilidad en bacterias anaerobias estrictas y facultativas. Posteriormente, Bresco⁷⁴ (2006) hallaron iguales porcentajes de sensibilidad y resistencia en *Prevotella intermedia*.

Muñante²⁰ (2005) encontró un alto porcentaje de *Peptostreptococcus anaerobius* en conductos radiculares necróticos. En nuestra investigación se realizaron lecturas a las 24 y 48 horas para esta bacteria. La solución de Metronidazol mostró el mejor efecto antibacteriano, aunque disminuyó su promedio de halos de inhibición a las 48 horas. Estudios previos de Kononen⁹¹ (2007) y Roberts⁹² (2006), también encuentran alta susceptibilidad al metronidazol en *Peptostreptococcus anaerobius*.

La combinación de drogas 3Mix tuvo igual promedio de halos de inhibición a las 24 y 48 horas. En tanto que la solución de Minociclina disminuyó ligeramente sus halos de inhibición a las 48 horas. Con respecto a la solución de Ciprofloxacina, *Peptostreptococcus anaerobius* mostró mayor sensibilidad a comparación de las demás bacterias. A diferencia de nuestros resultados, Kononen⁹¹ (2007) encontró resistencia a las Quinolonas (Moxifloxacina).

La actividad antibacteriana de la combinación de Drogas 3Mix para las bacterias anaerobias estrictas fue mucho mayor que para las bacterias anaerobias facultativas, probablemente a la alta efectividad del Metronidazol sobre anaerobios estrictos. Sin embargo, en nuestro estudio se pudo observar que

Metronidazol fue la solución antibiótica que mostró mayor actividad antibacteriana tanto en anaerobios estrictos como facultativos.

La alta susceptibilidad a la combinación de drogas 3Mix de la bacteria *Prevotella melaninogénica* demuestra que la combinación no tiene efectos antagónicos entre sus componentes, lamentablemente, no existen estudios previos con los cuales podamos comparar con mayor precisión nuestros resultados.

VI. CONCLUSIONES

- La combinación de drogas 3Mix es efectiva contra microorganismos anaerobios estrictos.
- La combinación de drogas 3Mix es efectiva contra microorganismos anaerobios facultativos
- La combinación de drogas 3mix fue más efectiva en bacterias anaerobias estrictas que facultativas.
- La combinación de drogas 3 Mix fue más efectiva que la solución de Minociclina en bacterias anaerobias estrictas pero no en anaerobias facultativas.
- La combinación de drogas 3 Mix fue más efectiva que la solución de Ciprofloxacina en bacterias anaerobias estrictas y facultativas
- La solución de Metronidazol fue más efectiva que la combinación de Drogas 3 Mix en bacterias anaerobias estrictas y facultativas.
- La solución de metronidazol fue más efectiva en bacterias anaerobias facultativas que en bacterias anaerobias estrictas

- La solución de Minociclina fue más efectiva en bacterias anaerobias estrictas que facultativas
- La solución de Ciprofloxacina mostró la más baja actividad antibacteriana de las cuatro soluciones antibióticas probadas. Sin embargo fue más efectiva en anaerobios estrictos que en facultativos.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar investigaciones similares mediante otros métodos microbiológicos con el fin de comparar los resultados con los obtenidos en la presente investigación.
- Evaluar la sensibilidad a la combinación de drogas 3Mix y sus componentes en bacterias aisladas de pacientes con piezas deciduas diagnosticadas clínica y radiográficamente con necrosis pulpar.
- Complementar estudios similares evaluando la eficacia de la combinación antibiótica In vivo.
- Realizar estudios comparando la actividad antibacteriana de la pasta 3Mix – MP con otros materiales selladores utilizados en tratamientos de pulpectomía en bacterias prevalentes en piezas deciduas necróticas con y sin reacción periapical.
- Realizar estudios comparando la actividad antibacteriana de la pasta 3Mix – MP con otros materiales selladores utilizados en tratamientos de pulpectomía en bacterias prevalentes en abscesos dentoalveolares de piezas deciduas.

- Realizar estudios in vitro evaluando la eficacia de la pasta 3Mix – MP como medicación intraconducto en piezas permanentes con re-tratamientos endodónticos.
- Difundir los alcances de la presente investigación para valorar el uso de la combinación de drogas 3Mix en tratamientos pulpares dentro de la practica clínica de la Odontopediatría.

BIBLIOGRAFIA

1. **McDONALD, Ralph.** Odontología Pediátrica y del Adolescente. Quinta Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Argentina. 1992.
2. **SATO T., Et. al.** In vitro antimicrobial susceptibility to combinations of drugs on bacteria from carious and endodontic lesions of human deciduous teeth. Oral Microbiol Immunol, vol 8. Nº 3. p 172-176, junio 1993.
3. **TACHAU WEN – SHIUN** et al. In vitro inhibition of bacteria from root canals of primary teeth by various dental materials. Pediatric dentistry, vol. 17, Nº 5, 1995.
4. **SATO IKUKO** et al. Sterilization of infected root-canal dentine by topical application of a mixture of ciprofloxacin, metronidazol and minocycline in situ. International Endodontic Journal, vol 29, Nº 2, p. 118 -124, 1996
5. **HOSHINO E.** et al. In vitro antimicrobial susceptibility o bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minicycline. International Endodontic Journal, vol. 29, Nº 2, p. 125 -130, 1996.
6. **T. TAKUSHIGE, E. HOSHINO.** Clinical Evaluation of LSTR 3Mix-MP Therapy for perforated Roots. Niigata Univ. Niigata. Japón. 2001.
<http://iadr.confex.com/iadr/2001chiba/scheduler/schedulerpaper.cgi?abstract=4345>
7. **CRUZ E.V.** et al. Penetration of Propylene glycol into dentine. International Endodontic Journal, vol. 34, Nº 4, p. 330, 2002.
8. **TAKUSHIGE T.** et al. Endodontic treatment of primary teeth using a combination of antibacterial drugs. International Endodontic Journal, Nº37, p. 132 – 138, 2004.
9. **WINDLEY, W.** et al. Desinfection of Immature Teeth with a Triple Antibiotic paste. Journal of Endodontics, vol. 31, Nº 6, p. 439-443, 2005.

10. **HOSHINO E.** et. al. Susceptibility of *Enterococcus faecalis* to a Combination of Antibacterial Drugs (3Mix) in Vitro. *J. Oral Biosci*, vol 47, Nº 4, p. 315 – 320, 2005.
11. **HOSHINO E.** et al. Oral Health program Using LSTR 3Mix-MP NIET Therapy. 2005.
http://iadr.confex.com/iadr/2006Orld/techprogram/abstract_73714.htm.
12. **NAKAHARA H.** et. al. Clinical Evaluation of LSTR 3Mix-MP Endodontic Treatment. Niigata University, Japón, 2005.
http://iadr.confex.com/iadr/2005Balt/techprogram/abstract_60499.htm.
13. **TAKUSHIGE T.** et. al. Clinical Evaluation of Endodontic Re- Treatment Using LSTR 3 Mix – MP. Niigata University. Japón, 2007.
http://iadr.confex.com/iadr/2007orleans/techprogram/abstract_91540.htm.
14. **SANJIWAN R. Et. al.** The effect of metronidazole on the anaerobic microorganisms of the root canal--a clinical study. *Fed Oper Dent*, vol 1, Nº 2, p. 30-36, Diciembre 1990.
15. **ANAN, H. MATSUMOTO, A.,** et. al. Effects of a Combination of an Antibacterial Agent (Ofloxacin) and a Collagenase Inhibitor (FN-439) on the Healing of Rat Periapical Lessions. *Journal of Endodontics*, vol. 22, Nº 12, p. 668 – 676. Diciembre 1996.
16. **HELING, Ilana** et. al. The Antimicrobial Effect within Dentinal Tabules of Tour Root Canal Sealers. *Journal of Endodontics*, vol 22, Nº 5, p. 257- 259, Mayo 1996.
17. **SIQUEIRA, Jose F., GONÇALVES, Reginaldo Bruno.** Antibacterilal Activities of Root Canal Sealers Against Selected Anaerobic Bacteria. *Journal of Endodontics*, vol. 22, Nº 2, p. 79 – 84, Febrero 1996.

18. **KARGÜL B.** et al. The Antibacterial Effects of Ornidazole on Primary Molars with Infected Pulps. International Journal of Experimental and clinical Chemotherapy, vol. 47, Nº 3, p. 203-207, 2001.
19. **CUNHA PAZELLI, L.** et al. Prevalence of microorganisms in root canals of human deciduous teeth with necrotic pulp and chronic periapical lesions. Brazilian Oral Research, vol. 17, Nº 4, p. 367-371, 2003.
20. **MUÑANTE CARDENAS,** José Luís. Identificación de Microorganismos anaerobios estrictos y facultativos frecuentes en necrosis pulpares. Tesis para optar el título de Cirujano Dentista. Lima. Perú. 2005.
21. **NAVIA, M., SHIN I.** Identificación y Cuantificación Microbiológica de bacterias en Conductos Necróticos. Canal Abierto. Revista de la Sociedad de Endodoncia de Chile. Nº 12. Octubre. 2005.
22. **SILVA Léa Assed Bezerra da, NELSON-FILHO Paulo, FARIA Gisele, SOUZA-GUGELMIN Maria Cristina** et. al. Bacterial profile in primary teeth with necrotic pulp and periapical lesions. Universidad de Sau Paulo. Brasil. Braz. Dent. J. [periódico na Internet]. 2006
23. **COHEN, Stephen; BURNS, Richard.** Endodoncia. Los caminos de la pulpa. Cuarta Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Argentina. 1991
24. **CANALDA SAHLI, Carlos; BREU AGUADÉ, E.** Endodoncia. Técnicas Clínicas y Bases Científicas. Primera Edición. Editorial Masson. Barcelona. España. 2001
25. **SOARES ILSO, José; GOLDBERG, Fernando.** Endodoncia. Técnica y Fundamentos. Primera Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Argentina. 2003.

26. **MONDRAGON ESPINOZA, Jaime D.**, Endodoncia. Primera Edición. Editorial Interamericana Mc Graw – Hill. México D.F. México. 1995
27. **LEONARDO, Mario**. Endodoncia. Tratamiento de los conductos radiculares. Segunda Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Argentina. 1994.
28. **INGLE, Jhon I., BAKLAND Leifk**. Endodoncia. 5ta Edición. Editorial Interamericana Mc Graw Hill. México. 2004.
29. **NEGRONI, Martha**. Microbiología Estomatologica. Fundamentos y Guía Práctica. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Argentina. 1998.
30. **TOYOSHIMA, Y.** et. al. A Bacteriological Study of Periapical Pathosis on Deciduous Teeth. JPN J. Pedid, N° 26, p. 449 – 58, 1988;
31. **SILVA REGGIARDO, Eduardo**. Manejo de los Problemas Pulpares en la Dentición Temporal. Primera Edición. Universidad Cayetano Heredia. Lima. Perú. 2004.
32. **PINKHAM, J.R.** Odontología Pediátrica. Primera Edición. Editorial Interamericana Mc Graw Hill. México D.F. México. 1991.
33. **CASTILLO MERCADO, Ramon**. Manual de Odontología Pediátrica. Primera Edición. Actualidades Medico Odontológicas Latinoamericanas C.A. Buenos Aires. Argentina. 1996.
34. **CUNHA** et. al. Soluciones Irrigadoras y Materiales Obturadores Utilizados en Terapia Endodóntica de Dientes Deciduos. Pesquisa Odontológica Brasileira de Odontopediatria, vol. 5, N° 1, p 75 - 83, Enero/Abril 2005.
35. **HOLAN, G, FUCKS, A.B.** A comparison of Pulpectomies using ZOE and KRI paste in primary molars: A Retrospective Study. Pediatr Dent. Chicago, vol. 15, N° 6, p. 403 – 407, Nov/Dec 1993.

36. **RIFKIN, A.** A simple, effective, safe technique for the root canal treatment of abscessed primary teeth. J. Dent. Children. Chicago, vol. 47, N° 6, p. 435 – 441, Nov/Dec. 1980.
37. **HOBSON, P.** The value of an intact deciduous arch. British Dentistry Journal. London, vol. 129, N° 4, p. 175, Agosto 1970.
38. **O'RIORDAN, M. W.; COLL, J.** Pulpectomy procedure for deciduous teeth with severe pulpal necrosis. Journal American Dental Association. Chicago, vol. 99, N° 3, p. 480-482, Setiembre 1979.
39. **SALAMA, F.S. ABDELMEGID, F.** Six percent citric acid better than hydrogen peroxide in removing smear layer: an in vitro pilot study. Pediatric Dentistry. Chicago, vol. 16, N° 6, p. 424 – 426, Nov/ Dec. 1994.
40. **WRIGHT J., Kelly; BARBOSA V., Sergio, et. al.** In Vitro antimicrobial and cytotoxic effects of Kri 1 paste and Zinc oxide – eugenol used in primary tooth pulpectomias. Pediatric Dentistry, vol. 16, N° 2, Marzo/Abril. 1994.
41. **PRIMO, L. G., CHEVITARESE, O., GUEDES – PINTO, A.C.** Efficacy of irrigating solution in removing radicular smear layer from anterior primary teeth. International Dental Research. San Diego, Anais, p. 411, 2002.
42. **COLL, J.A.** et. Al. Evaluation of one – appointment formocresol pulpectomy technique for primary molars. Pediatric Dentistry. Chicago, vol 7, N° 2, p. 123 – 129, Setiembre 1985.
43. **COLL, J.A.** et. Al. An evaluation of pulpal therapy in primary incisors. Pediatric Dentistry. Chicago, vol. 10, N° 3, p. 178-184, Setiembre 1988.
44. **TOBIAS, R.S., BROWNE R.M., et. al.** Antibacterial activity of dental restorative material. International Endodontic Journal, vol. 18, p. 161 – 71, 1985.

45. **COX Jr., S. T.**, et. al. The bactericidal potencial of various endodontic materials for primary teeth. Oral Surgery. Nº 45, pp. 947-54. 1978.
46. **ORSLAVICK, D.** Antibacterial properties of root canal sealer, cements and pastes. International Endodontic Journal, Nº14, p. 125-33, 1981.
47. **ALLEN, K. R.** Endodontic treatment of primary teeth. Aust. Dent. Journal. North Sydney, vol. 24, Nº5, p. 357-351, Octubre 1979.
48. **VITAPEX MANUAL.** Neo Dental Chemical Products.
49. **KUBOTA, K.; GOLDEN, B.E.**, et. al Root canal filling materials for primary teeth: A review of the literature. J. Dent. Children. Chicago, vol. 59, Nº 3, p. 225-227, Mayo/Junio 1992.
50. **HARDMAN JOLL, G., LIMBARD LEE, E., GOODMAN GILMAN, A.** Goodman y Gilman. Las bases Farmacológicas de la Terapéutica. 10ma. Edición. Editorial Interamericana Mc Graw Hill. México D.F. México. 2001
51. **ALVARADO ALVA, Juan C.** Antibióticos Quimioterápicos. Primera Edición. Apuntes Médicos del Perú. Lima. Perú. 1999.
52. <http://ponce.inter.edu/cai/reserva/jvelasquez/products.html>
53. http://www.sanyo-chemical.co.jp/product/macrogol/eng/4_2.htm
54. [http://noticias.juridicas.com/base_datos/admin.\(0110601_1_msc.html](http://noticias.juridicas.com/base_datos/admin.(0110601_1_msc.html)
55. **KOCH** et. al. Odontopediatría. Enfoque Clínico. Primera Edicion Editorial Medica Panamericana. Buenos Aires. Argentina. 1994.
56. **DALBY MORLA, Maria Paola.** Sensibilidad antibiótica de las bacterias mas prevalentes en abscesos dentoalveolares agudos. Tesis para optar el titulo de Cirujano Dentista. Lima. Perú. 2005.
57. **LIEBANA UREÑA, José.** Microbiología Oral. Editorial Mc. Graw Hill. Primera Edición. Madrid. España. 1995.

58. **NURKA, Carlos**; et. al. Resorption of a calcium hidroxide/ iodoform paste (Vitapex) in root canal therapy for primaty teeth: A case report. Pediatric Dentistry, vol. 22, N° 6, p. 517-520, 2000.
59. **SATO T., HOSHINO E.** et. al. Predominant obligate anaerobes in necrotic pulps of human decidous teeth. Microb Ecol Health, N° 6, p. 259-75. Diciembre 1993.
60. **CAVALIERI, J. STEPHEN**, et. al. Manual de pruebas de susceptibilidad. Sociedad Americana de Microbiología.
61. **VIERA TRIANTAFILO, V.** Metodo de diffusion de Kirby y Bauer versus Epsilometria (E-test). Revista Chilena de Infectologia; vol. 17 (Supl. 1), p. 33 – 39. 2000
62. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** Methods for Antimicrobial Susceptibility testing of Anaerobic Bacteria; Approved Standard – Seventh Edition. CLSI document M11 – A7. Clinical and laboratory Standards Institute. 2007.
63. **NCCLS.** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fourteenth Informational Supplement. NCCLS document M100 – S14. 2004
64. **GALVEZ C., MENDOZA R.** Capacidad bactericida de Pastas Experimentales Anti- A. Estudio In Vitro. Revista Odontología Sanmarquina, vol. 1, N° 7, Enero – Junio, 2001.
65. **TOVE LARSEN, NILS – ERIK FIELHN.** Development of resistance to metronidazole and minocycline in vitro. Journal of Clinical Periodontology, vol. 31. N° 6, p. 420 – 427. Junio 2004.

66. **WILLIAMS B.L., OSTERBERG S.**, et. al. Subgingival microflora of periodontal patients on tetracycline therapy. Journal of Clinical Periodontology, vol. 6 (4), p. 210-221, 1979.
67. **RODRIGUEZ RMJ, GONÇALVES C.**, et. al. Antibiotic resistance profile of the subgingival microbiota following sistemic or local tetracycline therapy. Journal of Clinical Periodontology. Journal of Clinical Periodontology, vol. 31, Nº 6, p. 420-427 (8), Junio 2004.
68. University of Pennsylvania medical center Guidelines for Antibiotic Use. Antimicrobial Susceptibilities of Obligately Anaerobic Bacteria Performed 11/06 on Bacterial Isolates Collected from 2003 – 2006. http://www.uphs.upenn.edu/bugdrug/antibiotic_manual/susceptibility/anaerobe06.htm.
69. **JACINTO R.C., GOMES F.A.**, et. al. Microbiological analysis of infected root Canals from symptomatic and asymptomatic teeth with periapical periodontitis and the antimicrobial susceptibility of some isolated anaerobic bacteria. Oral Microbiol Inmunol, Nº 18, p. 285 – 292, 2003.
70. **GALKIN D., KRETCHIKOVA O.**, et. al. Antimicrobial Susceptibility of Gram - Negative Anaerobic Bacteria from 2 Hospitals in Smolensk, Russia. Poster 1633. Institute of Antimicrobial Chemoterapy (IAC) of the Smolensk State medical Academy. Smolensk Russia. 2005. <http://www.antibiotic.ru/files/pdf/en/eccmid16-p1633.pdf>
71. **LITTERIO M., BIANCHINNI G.**, et. al. Actividad "In Vitro" de 10 antimicrobianos frente a bacterias anaerobias. Estudio multicentrico, 1999 – 2002. Revista Argentina de Microbiologia, Nº 36: 130 – 135, 2004.

72. **LANA MA, RIBEIRO – SOBRINHO A.P.** et. al. Microorganisms isolated from root canal presenting necrotic pulp and their drug susceptibility in vitro. Oral Microbiol Immunol, Nº 16, p. 100-105, 2001.
73. **GOLDSTEIN E., CITRON D.**, et. al. Comparative In Vitro Susceptibilities of 309 Unusual Anaerobic Strains to Tigecycline and Eight Other Antimicrobial Agents. Antimicrobial Agents and Chemiotherapy, vol. 50, Nº 10, p. 3507 – 3513, Outubro 2006.
74. **BRESCO-SALINAS M., COSTA-RIU N., BERINI-AYTES L., GAY-ESCODA C.** Susceptibilidad antibiótica de las bacterias causantes de infecciones Odontogénicas. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2006: 11: E70 – 5.
75. **ERCAN E., DALLI M.**, et. al. Investigation of Microorganisms in infected dental roots Canals. Biotechnol & Biotechnol Eq, vol 2, Nº20, p. 166 – 172, 2006.
76. **HOSHINO E.** Predominant Obligate Anaerobes in Human Carious Dentin. J. Dent. Res, vol. 10, Nº 64, Outubro 1985.
77. **ONÇA O., GOGULU D., UZEL A.** Efficacy of various intracanal medicaments against Enterococcus faecalis in primary teeth: An in vivo study. J Clin Pediatr Dent, vol. 3, Nº 30, p. 233–238, 2006.
78. **COHEN MM, JORES SM, CALESTI LP, MASS B.** Bacteriologic study of infected deciduous molars. Oral Surg oral med Oral Pathol. 1960; 3: 1382:1386.
79. **TOYOSHIMA Y., FUKISHIMA H.** et. al. A bacteriological study of periapical pathosis on deciduous teeth. JPN Dent J.; Nº 26, p. 449 – 458, 1988
80. **FARIA G.** Prevalencia de microorganismos en canais radiculares de dientes deciduos de humanos portadores de necrose pulpar e lessao periapical. Efeito de preparo biomecanico e do curativo de demora a base de hidroxido de

calcio. Dissertação de Maestria. Riberao preto: Faculdade de odontología de USP; 2001.

81. **GODOY V.L.** Distribuição de bacterias plactonicas, colonias bacterianas e biofilmes microbianos e dentes deciduos com pulpite e/un necrose pulpar. Tese de doctorado. Bauru: Faculdade de odontología da USP: 1999.
82. **CASTELLI M., MALAGODI M,** et. al. In Vitro studies of two 5 – Nitroimidazoles derivates. J. Antimicrob Chemoter, Nº 40, p. 19 – 25, 1997
83. **BANCESCU, G., DUMITRIU, S., PANA,** et. al. Susceptibility testing of Streptococcus mitis group isolates. Indian journal of medical research, vol. 119, p. 257 – 261, 2004.
84. **CHOU YK, CHEN HJ.,** et. al. In Vitro susceptibility of lactobacilli isolated from commercial products containing active lactobacilli. Acta Paediatr. Taiwan, Nº 45 (3), p. 141 Mayo – Junio 2004.
85. **HILLIER SL., HOLLOWAY M.,** et. al. Antimicrobial Agent Susceptibility of lactobacillus crispatus, L. jensenii, L. gasseri, and other Lactobacillus Species. Abstr Intersci Conf Antimicrob Agents Chemoter.. Sep 26 – 29; 39 : 271. 1999 (abstract no. 2276)
86. **BAYER A., CHOW A.,** et. al. Susceptibility of 40 Lactobacilli to six Antimicrobial Agents with Broad Gram – Positive Anaerobic Spectra. Antimicrob Agents Chemoter. 1978. November; 14 (5): 720 – 722.
87. **DELGADO S., FLORES A.,** et. al. Antibiotic Susceptibility of lactobacillus and Bifidobacterium Species from the Human Gastrointestinal Tract. Current Microbiology, vol. 50, Nº 4, Abril 2005.

88. **LECORN DW., VERTUCCI FJ.,** et. al. In vitro activity of amoxicilin, clindamycin, doxycycline, metronidazole, and moxifloxacin against oral Actinomyces. J Endod.; Nº 33(5), p. 557-560, Mayo 2007
89. **SMITH AJ. , HALL V.,** et. al. Antimicrobial susceptibility testing of Actinomyces species with 12 antimicrobial agents. Journal of Antimicrobial Chemotherapy.. Nº 56(2), p. 407 – 409, 2005.
90. **MAESTRE J., BASCONES A.,** et. al. Enfermedad periodontal, odontopatogenos y perfil de resistencia a los antibioticos habitualmente utilizados como tratamiento o profilaxis en odontología en España. Revista Española de Quimioterapia. Vol. 20. Nº 1. 2007. Pags. 61 – 67.
91. **KÖNÖNEN E., BRYK A.,** et. al. Antimicrobial susceptibility of peptostreptococcus anaerobius and the newly described Peptostreptococcus stomatis isolated from various human sources. Antimicrob. Agents Chemother. Doi: 10. 1128, Abril 2007.
92. **ROBERTS S., SHORE K.,** et. al. Antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria in New Zealand: 1999 – 2003. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2006. 57 (5): 992 – 998.
93. **BORCHARDT KA., LI Z.,** et. al. An in vitro metronidazole susceptibility test for trichomoniasis using the InPouch TV test. Genitourinary Medicine, vol 72, Nº 2, p. 132-135,1996.

Anexos

**(Ver formato
impreso)**